

AZ ENZIMEK
ÉS GYAKORLATI ALKALMAZÁSUK

AZ
ENZIMEK ÉS GYAKORLATI
ALKALMAZÁSUK

IRTA:
ZEMPLÉN GÉZA

✻ A MAGYAR CHEMIAI FOLYÓIRAT ✻
XIX—XX. ÉVFOLYAMÁNAK MELLÉKLETE

30 RAJZZAL



BUDAPEST
A KIR. MAGY. TERMÉSZETTUDOMÁNYI TÁRSULAT KIADÁSA
(Budapest, VIII., Eszterházy-utca 16)
1915

ENYMEK ÉS GYAKORLATI
ALKALMAZÁSOK

1874

1874

ELŐSZÓ.

Kevés fejezete van a chemiának, amely a legutolsó néhány év alatt olyan nagyot haladt volna, mint éppen az enzimeké. Éppen ezért a vegyész lépten-nyomon érzi, hogy a megismerésük és a velük való bánás manapság már nélkülözhetetlen. Tekintve azt, hogy az enzimek irodalma igen tekintélyes, sajnos azonban, legnagyobbbrészt úgyszólván hasznavehetetlen, nagyon sokan nem is érnek reá vagy pedig félnek tőle, hogy az enzimek irodalmának útvesztőibe tévedjenek. Ezért örömmel vettem a Kir. Magy. Természettudományi Társulat chemiai szakosztályának megtisztelő felszólítását, hogy az enzimekről szóló ismereteink közül azt, ami kiforrott és ami használható, a Magyar Chemiai Folyóirat mellékleteképpen megírjam és kartársaim rendelkezésére bocsássam. Erre a munkára nem is vállalkoztam volna, ha nem állott volna rendelkezésemre több kitűnő szakmunka, amelyek a nagy adathalmazban az eligazodást megkönnyítik. Ezek a forrásmunkák, amelyeket mindenkinek, aki e tárgyban elmélyedni óhajt, melegen ajánlok, a következő munkák:

Oppenheimer: Die Fermente und ihre Wirkungen.

Abderhalden: Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden.

Abderhalden: Biochemisches Handlexikon.

Effront: Les catalisateurs biochimiques.

Euler: Allgemeine Chemie der Enzyme.

Wohlgemuth: Grundriss der Fermentmethoden.

Cohnheim: Chemie der Eiweisskörper.

Budapest, 1915. július havában.

Zemplén Géza.

TARTALOMJEGYZÉK.

	Oldal
Az enzim fogalmának történeti fejlődése	1
Az enzimek tulajdonságairól általában	7
Az enzimek különleges működéséről	11
Az enzimek előállítására használható általános módszerek	14
Az enzimhatás feltételeiről, kimutatásáról és követéséről	18
A hőmérséklet hatása az enzimikus reakciókra	25
A fénysugarak és elektromos áramok hatása az enzimekre	29
Chemiai szerek hatása az enzimekre, kinázok és koenzimek	29
A közeg hidrogénionkoncentrációjának hatása az enzimhatásokra	31
A hidrogénionkoncentráció meghatározása	33
Az elektrométriás módszer	33
A kolorimetriás módszer	35
Az enzimek adszorpciója	47
Az enzimek elektromos átvitele	49
Enzimikus szintézisek	51
Az enzimek elnevezése és beosztása	53
I. Hidrolizáló enzimek (hidrolázok)	54
<i>Étert bontó enzimek</i>	54
Lipáz (pialyn, steapsin)	54
Zsírtbontó enzimek alkalmazása a gyakorlatban	58
Saloláz (Amylsalicyláz)	61
Monobutyrináz	62
<i>Szénhidrátokat bontó enzimek (Carbohydrázok)</i>	62
A cukrok hidrazonjairól és oszazonjairól	63
A cukroknak titrimétriás meghatározása F e h l i n g-féle oldattal	65
A cukrok meghatározása a polarimétriás módszer segítségével	69
Az enzimek tekintetében fontosabb cukrok jellemző tulajdonságai	72
<i>Monoszacharidek</i>	72
<i>Pentózok</i>	72
l'-Arabinóz	72
l'-Xüloz	74
<i>Hexózok</i>	77
d-Glükóz	77
d-Mannóz	80
d-Galaktóz	82
d'-Fruktóz (laevulóz, gyümölcscukor)	84
<i>Diszacharidek</i>	87

	Oldal
Nádcukor ...	87
Trehalóz ...	88
Gentiobióz ...	89
Czellobióz (czellóz) ...	90
Máltóz (máltobióz) ...	91
Izomáltóz ...	93
Tejczukor ...	94
Melibióz (galaktozido-glükóz) ...	95
<i>Trisaccharidek</i> ...	96
Raffinóz (melitrióz) ...	96
<i>Invertáz</i> (invertin, szükráz, saccharáz) ...	98
Invertáz előállítása ...	99
Az invertáz sajátságai ...	100
<i>Maltáz</i> ...	104
Előállítás ...	105
A maltáz jelenlétének fölismerése ...	105
A maltáz tulajdonságai ...	106
<i>Laktáz</i> (Laktoglükáz) ...	107
<i>Trehaláz</i> (trehaloglükáz) ...	110
<i>Melibiáz</i> ...	111
<i>Raffinázok</i> ...	111
α -Raffináz (raffinomelibiáz) ...	111
β -Raffináz ...	112
<i>Gentiobiáz</i> ...	113
<i>Celláz</i> vagy <i>cellobiáz</i> ...	113
<i>A raffináz alkalmazása</i> ...	113
Melezitáz ...	113
Gentianáz ...	113
Stachyáz ...	113
<i>Amiláz</i> (diasztáz) ...	114
Keményítő (Amylum) ...	115
A keményítő fontosabb származékai ...	116
A keményítő kimutatása és meghatározása ...	116
Oldható keményítő ...	117
Amilóz ...	118
Amilopektin ...	118
Glükogén ...	119
Az amiláz előfordulása ...	120
Diasztáztartalmú oldat készítése ...	121
Tisztított diasztázkészítmény előállítása ...	121
Előzetes kísérletek a diasztáz tulajdonságainak megismerése céljából ...	122
A keményítő diasztázos hidrolízisét bemutató kísérlet ...	122
A diasztáz hatásának termékei ...	123
Amylodextrin ...	126
Erythrodextrinek ...	127
I. Erythrodextrin ...	127
II α és II β erythrodextrin ...	127
Achroodextrinek ...	127

	Oldal
I. Achroodextrin (I. Határdextrin)	127
Maltodextrin	128
γ -Maltodextrin	129
Állandó dextrin	131
Máltóz	131
Izomáltóz	132
A keményítő enzim hidrolízisének keletkező termékek elválasztása és meghatározása	132
A diasztáz mennyiségi meghatározása	134
Az amyláz tulajdonságai	137
Inuláz (inulináz)	139
Czelluláz (cytáz)	141
Semináz	141
Xylanáz	141
Pektináz	141
Glükózidokat bontó enzimek	142
Emulzin (Amygdaláz)	143
Az emulzin készítése	149
A növényrészek kezelése	149
Arbutin	151
Phloridzin	152
Salicin	152
Populin	153
Helicin	153
Coniferin	153
Gaultheráz, Betuláz	154
A gaultherin	154
Isatáz, indoxyláz vagy indimulsin	154
Mirozináz (myrozin)	154
Proteineket bontó enzimek	157
Proteázok és Amidázok (proteolytes enzimek)	157
A proteinek	157
A) A zsírsav-csoportokhoz tartozó aminosavak	160
I. Monoamino-monocarbonsavak	160
Glükokoll (Glücin; aminoecetsav)	160
d-Alanin (d- α -aminopropionsav)	160
d-Valin (d- α -Aminoisovaleriánsav)	162
l-Leucin; l- α -aminoisobutylecetsav	163
d-Isoleucin; d- α -amino- β -methyl- β -aethylpropionsav	165
II. Monoamino-oxi-monocarbonsavak	167
l-Serin, l- α -amino- β -oxipropionsav	167
III. Monoamino-dicarbonsavak	169
l-Asparaginsav (l- α -aminoborostyánkősav)	169
d-Glutaminsav (d- α -aminoglutársav)	169
IV. Diamino-monocarbonsavak	170
d-Lysin (α - ϵ -diaminocapronsav)	170
d-Arginin (δ -Guanido- α -aminovaleriánsav)	172
d-Ornithin (α - ϵ -diamino-valeriánsav)	174
V. Diamino-polyoxi-monocarbonsavak	174

	Oldal
$C_{12}H_{26}N_2O_5$ összetételű aminosav	174
VI. Kéntartalmú aminosavak	175
1-Cystin (1- α -diamino- β -dithio-dilactylsav)	175
1-Cystein	177
B) Aromás aminosavak	178
1-Phenylalanin (1- β -phenyl- α -aminopropionsav, α -aminohydro- fahéjsav)	178
1-tyrosin, 1-p-oxiphenyl- α -aminopropionsav	179
C) Heterocyclusos aminosavak	180
1-Prolin (1- α -pyrolidincarbonsav)	180
1-Oxiprolin (1- γ -oxi- α -pyrolidincarbonsav)	182
1-Tryptophan (1- β -indol- α -aminopropionsav)	182
1-Histidin (1- β -imidazol- α -aminopropionsav)	184
A proteinek és aminosavak átalakulásai az élő szervezetben	187
Az aminosavak elválasztása és megközelítő meghatározása	191
Glükokoll, d-alanin, l-leucin, l-prolin, l-aszparaginsav, d-glu- taminsav, l-serin és l-phenylalanin leválasztása az aminosav- keverékből	192
Az oxiprolin elkülönítése	199
A tyrosin elkülönítése és meghatározása	200
A cystin elkülönítése	200
A tryptophan elkülönítése	200
A histidin, lysin és argininnak egymástól való elválasztása és meghatározása	201
A histidin és arginin kicsapása ezüstsóik alakjában	201
A histidin meghatározása	202
Az arginin meghatározása	203
A lysin meghatározása	203
A proteinek általános jellemzése	204
I. Egyszerű proteinek	211
1. Albuminok	211
2. Globulinok	212
3. Alkoholban oldható növényi eredetű proteinek	215
4. Hisztonok	216
5. Protaminek	216
6. Albuminoidok	217
II. Összetett proteinek (proteidek)	220
1. Phosphoproteidek	220
2. Nucleoproteidek	222
A nucleinsavak hidrolizise forró kénsavval és a keletkezett termékek elválasztása	224
3. A haemoglobín és rokonai	227
4. Glükoproteidek	231
A proteinek enzimés hidrolizisekor jelentkező közbeeső termékek	232
Albumózok és peptonok	233
Pepszinglutinpepton előállítása	235
α -Tripszin fibrinpepton	237
Pepszin	239
A pepszin előállítása P e k e l h a r i n g szerint	239

	Oldal
A pepszin kimutatása és mennyiségi meghatározása	240
A pepszin sajátságai	245
Pepszinogén (propepszin)	249
<i>Tripszin</i>	250
Előfordulás és képződés	250
A tripszin előállítása	251
Tripszintartalmú oldat előállítása	253
A tripszin kimutatására és meghatározására szolgáló módszerek	253
A tripszin hatásának fölismerése és megfigyelése optikai úton	257
d-Alanyl-glycin készítése	257
A tripszin sajátságai	260
Enterokináz	263
<i>Kevéssé ismert proteázok</i>	264
<i>Papayotin (papain, papayicin, caricin)</i>	265
<i>Baktériumproteázok</i>	265
<i>Autolites enzimek</i>	266
<i>Peptázok (peptidázok, peptolites enzimek)</i>	267
A peptázok előfordulása és hidrolites működésük alapanyaga	267
<i>Erepszin (ereptáz)</i>	269
II. Egyszerű amidázok	271
Argináz	271
Kreatináz, Kreatáz	271
Guanáz	271
Ureáz	272
Megalvasztó enzimek (Koagulázok)	273
Az oltóenzim (chymosin, chimáz)	273
Az oltóenzim előfordulása	273
Az oltóenzim előállítása	275
Az oltóenzim kimutatása és meghatározása	275
A „megalvadás idejének“ meghatározása Fuld szerint	277
Az oltókészítmény értékének meghatározása a megalvadás idejéből	278
A szabályos oltóenzim készítése van Dam szerint	279
Az oltóenzim tulajdonságai	282
Az oltóenzim működése és a tej megalvadása	283
A thrombáz (thrombin, fibrinenzim)	285
Thrombázoldatok előállítása	283
Fibrinogéntartalmú folyadékok előállítása	287
A thrombáz sajátságai	289
A vér megalvadás-idejének meghatározása	290
A fibrin-enzim és a fibrinogén mennyileges meghatározása	291
III. Oxidázok (oxidáló enzimek)	293
Az alkohol-oxidáz	297
Az alkohol-oxidáz előfordulása és tulajdonságai	302
Az aldehydáz (salicyláz, α -oxidáz)	303
Az aldehydáz tulajdonságai	305
<i>Purinoxidázok</i>	305
A xanthinoxidáz	305
A xanthinoxidáz sajátságai	307
<i>Urikáz</i>	307

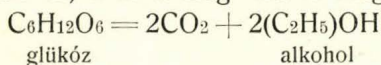
	Oldal
Az urikáz kimutatása és meghatározása	309
Az urikáz tulajdonságai	309
<i>Fenolázok</i>	309
Fenolázkészítmények előállítása	310
A fenolázok kimutatása és meghatározása	311
A fenolázok sajátságai és működésük	312
<i>Peroxydáz</i> (peroxydiasztáz, anäroxidáz, leptomin)	313
A peroxydázok kimutatása és meghatározása	315
<i>Oxigenázok</i>	319
Hangyasavperoxidáz	321
<i>Tyrosináz</i>	321
A tyrosináz előfordulása	322
Tyrosináz előállítása burgonyából	322
Tyrosináz előállítása gombából	323
A tyrosináz kimutatása	323
A tyrosináz tulajdonságai	324
Függelék az oxidázokhoz	325
IV. Kataláz	326
A kataláz előfordulása	326
A kataláz előállítása	327
Gombakataláz	327
Dohánylevélkataláz	327
Vérkataláz	328
Szalonnakataláz	328
A kataláz kimutatása és hatásfokának mennyiségi meghatározása	328
A permanganátos módszer	329
A jodométriás módszer	329
A kataláz tulajdonságai	329
V. Erjesztő enzimek vagy zümázok	330
A zümázok előfordulása	331
A zümáz előállítása	331
Az élesztő nedvének előállítása sajtolás útján	334
Zümáztartalmú folyadék készítése kioldás útján	334
A zümáz jelenlétének kimutatása és hatásfokának megállapítása	335
A zümáz tulajdonságai és működésének körülményei	336
A karboxiláz	339

Az enzim fogalmának történeti fejlődése.

Már őseink tudták, hogy ha gyümölcslevet, vagy egyéb cukor-tartalmú folyadékot levegőn hagynak állni, nemsokára olyan jelenségek nyilvánulnak, a melyeket régóta erjedés néven foglaltak össze. A folyadékban gázfejlődés mutatkozik, éppen innen származik az erjedés (fermentatio) név, melyet egy ideig mindenféle gázfejlődéssel járó jelenségre általánosságban használtak. A gázfejlődéssel egyszersmind zavarossá válik az erjedő folyadék, és nemsokára az élesztőnek nevezett üledék látható az edény fenekén. Azt is már régen észlelték, hogy a folyadék eredeti édes íze erjedés közben eltűnik és a lé részegítő hatásúvá lesz. És már ősrégi idők óta az édes gyümölcsök levéből, a mézből és mindenemű cukros oldatból erjesztés útján italokat készítettek. Évszázadokig tartott, míg az emberiség az erjedés jelenségeinek csak megközelítő magyarázatára jutott.

Az elerjesztett folyadékokban az alkohol jelenlétét hamar fölfedezték, de nem voltak vele tisztában miként jutott oda. Míg Basilius Valentinus szerint az erjedési folyamat nem volt más, mint már a folyadékban lévő alkoholnak természetes megtisztulása, addig Lemery már helyesen tudta, hogy az alkohol csak az erjedés után van jelen és Becher már azt is leírta, hogy az alkohol keletkezéséhez édes anyagok erjedése szükséges, továbbá különbséget tett alkoholos és savas (tejsavas) erjedés között.

Lavoisier lángszelleme, mint a chemia többi ágában, itt is korszakot-alkotót létesített. Mennyiségileg meghatározta az erjedés következtében eltűnt és keletkezett anyagokat, és azt találta, hogy a folyamat közben a cukor két részre bomlik, melyek közül az egyik szénsavvá, a másik pedig alkohollá alakul. Azt is hozzá tette, hogy ha lehetséges volna a két bomlásterméket valami módon újra egyesíteni, ismét cukor keletkeznék. A kémiai folyamat okával nem foglalkozott. Hasonlóan járt el Gay-Lussac is, a ki a még ma is megközelítéssel érvényes



egyenlettel fejezte ki az erjedés közben lejátszódott kémiai reakciót. Ő

ugyan igyekezett meg is magyarázni a jelenséget, a mennyiben azt tartotta, hogy az oxigén maga idézi elő az erjedést és az erjesztő az oxigén hatása útján keletkezik. Az erjesztő (fermentum) néven kívül azonban egyéb sem maradt meg ebből a hiányos magyarázatból.

Berzelius és Mitscherlich az erjedést *katalitikus* vagy *kontakt* hatás eredményének tulajdonította, a nélkül azonban, hogy tiszta képet nyújtott volna az erjedésről.

Nemsokára új irányt látunk az erjedési jelenségek vizsgálatában és magyarázásában kifejlődni. Az addig csak tisztátalanságnak tartott élesztő-csapadékot kezdik szemügyre venni. Már Leeuwenhoek' (1680) vizsgálta mikroszkóppal az élesztőt és látta, hogy gömbölyded, vagy tojásalakú, apró szemecskék halmaza. Nem ismerte fel azonban bennök az élő szervezeteket és egyszerűen fehérjecsapadékoknak tartotta őket. Az alak maga nem volt feltűnő neki, arra gondolván, hogy a keményítő is némileg hasonló alakban található a növényekben. Erxleben (1818) ugyan kijelentette, hogy az élesztő élő szervezet és okozója az erjedésnek, de nézetét kellő súlylyal nem magyarázta. Ugyane felfogás helyességét egymástól függetlenül és minden kétséget kizárólag Cagniard de Latour (1835), Schwann (1837) és Kützing (1837) igazolta be.

Schwann az élesztősejtek növekedését kísérte figyelemmel és bebizonyította növényi létüket. Kimutatta, hogy kifőzött cukros oldatok, ha különben gondosan el vannak zárva, levegő jelenlétében is változás nélkül elállnak. Ugyanez történik akkor is, ha csak kihevített, vagy kénsavval megmosott levegőt juttatnak érintkezésbe a cukros oldattal. Ellenben minden esetben beállt az erjedés, ha a folyadékot közönséges levegő hatásának tették ki. Közel volt tehát arra gondolni, hogy a levegőben mindenütt élesztőcsirák vannak jelen, ezek a cukros oldatba jutván, elszaporodnak és erjedést okoznak. Schwann nézete szerint az élesztő a cukorból táplálkozik, a széndioxidot és alkoholt pedig mint bomlástermékeket választja ki.

Ezt a felfogást nagy ellenszenvvel fogadta az akkori tudományos világ. Különösen Liebig és Wöhler, a kik az akkori kor chemikusaira legnagyobb hatással voltak, nemcsak, hogy nem akarták elismerni az erjedés és az élesztőszervezetek között fennálló viszonyt, hanem a legmaróbb gúnnyal üldözték az új tan hirdetőit. Legjobb tanúságot tesz erről az a szatira, melyet oly komoly szaklapban, mint a Liebigs Annalen (29, 100 [1839]), Wöhler és Liebig névtelenül tettek közzé.

De nem csodálkozhatunk, hogy ezek a kutatók annyira lebecsülték az új felfogást. Hiszen csak néhány évvel előbb sikerült éppen Wöhlernek a húgyanyag szintézise útján a vitalisztikus elméletet kétségessé tenni. Természetes, hogy a nagy diadal után már minden jelenséget egyszerű chemiai folyamatokra akartak visszavezetni. Az erjedés vita-

lisztikus magyarázata helyett Liebig kémiai elméletet eszelt ki. Szerinte az élesztő oxidációjával együtt járó kémiai mozgás a cukorra terjed át és bomlását okozza. Ez a Liebig-féle bomlási elmélet (Zersetzungstheorie), mely szerint az élesztő jelenléte ugyan szükséges az erjedéshez, maga az élesztő azonban nem élő szervezet, hanem folytonos bomlásban lévő szerves anyag. Kihalófélben levő, vagy rothadásnak indult élesztő fel is jogosítana ilyen feltevésre, az élettelen friss élesztőről azonban Liebig egyszerűen nem nyilatkozott.

Hiába szóltak Mitscherlich, Helmholtz Hermann és Schröder-nek kísérletei egybehangzóan a vitalisztikus felfogás mellett, Liebig-nek óriási tekintélye mellett nézetüket nem fogadta el a tudományos világ. Várni kellett még egy olyan nagy kutatóra, a ki Liebig-gel felvehesse a harcot.

És csakugyan megjelent Pasteur, a ki a „*Nincs erjedés élő szervezet nélkül*“ jeligét a tudományos világban érvényre juttatta és mindenkivel elismertette. Egy évtizeden keresztül tartó vizsgálataival szigorúan bebizonyította, hogy az erjedés nem az élesztő bomlásához, elhalásához, hanem éppen a leglúgtetőbb életéhez van kötve. Azt is kimutatta, hogy az erjedéshez bomlékony fehérjetartalmú anyagok jelenléte egyáltalában nem szükséges, mert olyan oldat, mely cukron és néhány szerves tápláló són kívül egyebet sem tartalmaz, ha bele csekély mennyiségű élesztőt telepítünk, élénk erjedésnek indul. Schröder-nek megfigyelése, mely szerint vattából csavart dugó elég ahhoz, hogy az élesztőszervezeteket a kifőzött oldattól távoltartsa, helyesnek bizonyult. Viszont Pasteur a kísérletet azzal a keresztpróbával egészítette ki, hogy a szervezetek megszürésére használt vattának foszlányával kifőzött cukoroldatot erjedésnek indított.

Mindeddig azonban a levegőben feltételezett lebegő és az erjedést megindító élesztőcsirákat senki sem látta. Pasteur érdeme volt ezeket is tanulmányozni, még pedig nagyon leleményes módszer segítségével. Lövőgyapoton keresztül szivattott jó darabig levegőt s most a gyapotot éter-alkohol elegyében feloldotta. Az oldhatatlan maradék mikroszkópi vizsgálata alkalmával egymás után fedezte fel azokat a szervezeteket, melyeket erjedésnek indult oldatokban lehet észlelni. Ezután már nem akadt senki, a ki kételkedett volna abban, hogy az erjedést a levegőben mindenütt előforduló csirák közvetítik. Ezek a cukortartalmú folyadékba jutva elszaporodnak és életműködésük következtében alkoholt és széndioxidot létesítenek.

Hátra volt azonban még a jelenség élettani magyarázata. Eleinte többen (Schwann, Mayer Adolf) azt gondolták, hogy az élesztő a cukrot táplálkozására fordítja, az alkohol és széndioxid pedig kiválasztott bomlástermékek. Nägeli-nek érdeme, hogy ezt a nézetet meg-

döntötte. Gondoljuk csak meg azt, hogy $1\frac{1}{2}$ súlyrész élesztő 100 súlyrész szőlőcukrot bont el 18 óra alatt, úgy hogy a cukornak 95%-a alkohollá és széndioxiddá alakul. E közben az élesztő csak 1 súlyrésznyi gyarapodást mutat. Ha tehát az alkoholos erjedés táplálkozási folyamat volna, a kihasználás mindössze 1% lenne, a mi minden, csak nem gazdaságos. Pedig éppen a cukor a legkönnyebben feldolgozható anyagok közé tartozik. Más szervezet, mely erjedést nem okoz, pl. néhány penészgomba, 100 súlyrész cukorból 33—43%-ot bír testének felépítésére értékesíteni. Viszont erjesztőgombák, ha őket többször átültetik olyan közegbe, a mely elerjeszthető anyagokat nem tartalmaz, szép növekedést mutatnak. Mindezeket megfontolva arra az eredményre kellett jutni, hogy a *táplálkozási* elmélet tarthatatlan.

E helyett Pasteur azt tette fel, hogy az élesztőgomba oxigén-szükségletét fedezi a cukorban lévő oxigénből s ezért bontja el a cukrot. Szerinte az erjedés tulajdonképpen levegő nélkül való élet („vie sans air“). Erre a gondolatra a nagy kutató az anaerob szervezetek felfedezése következtében jutott. Nem volt szerencsés azonban elméletével, mert kiderült, hogy az élesztő, levegőnek bőséges hozzájárulása mellett is, éppen olyan élénken bontja a cukrot.

Nem tekintve, hogy ebben a pontban a kérdés megoldatlan maradt, Pasteur nézetét az erjedés vitalisztikus felfogására nézve mindenki elfogadta. Maga Liebig is kénytelen volt az erjesztő szervezetek fontosságát beismerni és elméletét a szerint módosítani (1870). Azt nem állította többé, hogy az élő sejt maga bomlik el, de igenis fenntartotta, hogy az élő sejtben lehetnek olyan anyagok, a melyek bomlásuk folytán a cukor bomlását is előidézik. Még világosabban fejezte ki magát már előbb Traube (1858), a mikor azt mondta, hogy „*az élesztősejtekben többek között olyan anyag is van, mely az erjedést előidézi*“. Ebben a kijelentésben benne van az enzimek tanának alapgondolata, mely összefüggésbe hozta az erjedést egyéb szintén nehezen megfejtendő jelenséggel.

Már 1814-ben észlelte Kirchhoff, hogy a csirázó árpában olyan anyag van, mely a keményítőcsirizt elcukrosítja. Dubrunfaut (1823) a megfigyelést megerősítette, Payen és Persoz (1833) pedig a csirázó árpa vizes vonadékából alkohollal olyan csapadékot létesített, a mely megszárítva és vízben oldva, a keményítőcsirizt cukorra alakította. Ezt az anyagot *diasztáznak* nevezték el. Nemsokára ugyanilyen hatású anyagot a nyálban is találtak. Néhány évvel később (1836) Schwan a gyomornedvben a *pepszint* fedezte fel, mely a fehérjéket hártván átdiffundáló anyagokra bontja fel. Berthelot azt észlelte, hogy az élesztő vizes kivonata a nádcukrot két más egyszerűbb összetételű cukorra bontja s ez által az *invertázt* fedezte fel. Liebig és Wöhler hasonló anyagot észlelt a mandulában; ez az amygdalint cukorra, benzaldehydre és

hydrogényanidra bontja. Ez volt az *emulzin*. K ü h n e is előállított különféle baktériumból nagyon hatásos készítményeket, melyek a keményítőt, gummit, vagy pedig a proteineket bontották egyszerűbb anyagokra. Ő nevezte el ezeket a hatásos testeket *enzimek*-nek.

Pasteur vizsgálatai után ezeket az enzimeket lényegesen megkülönböztették az élő erjesztőktől, mint a mely az alkoholos, tejsavas stb. erjedést előidézi. Ebből fejlődött ki az a gondolat, hogy vannak *kialakult* vagy *szervezetes* erjesztők, pl. az élesztősejt és ezekkel szemben vannak *nem kialakult* enzimek, mint a diasztáz, a pepszin, az emulzin stb. A két-féle folyamat közt pedig volt sok hasonlatosság is. Daczára annak, hogy sokan érezték ennek a megkülönböztetésnek erőszakos voltát, egyelőre el kellett azt fogadni, mert nem sikerült az alkoholos erjedést előidéző anyagot magától az erjesztőszervezettől elválasztani s ez által bebizonyítani, hogy ebben az esetben is enzimmel van dolgunk.

Buchner érdeme, hogy a bizonytalanságot, mely a kialakult és nem kialakult erjesztők, illetve enzimek fogalmával együtt járt, példás vizsgálataival megszüntette, a mennyiben szigorúan bebizonyította, hogy az alkoholos erjedést is különleges, az élesztősejtben keletkezett anyag idézi elő, mely aránylag egyszerű módon elkülöníthető a szervezettől.

Ő friss, de szárazra sajtolt élesztőt kvarczporral és kovafölddel kevert, majd a homokszerű száraz tömeget nagy csészében erélyesen dörzsölte. Néhány percz mulva már a tömeg nedves, péphez hasonló lett, egyszersmind világos sárga színe sötét szürkésbarnára változott. Az élesztősejtek fala megrepedt, belsejükből sejtnedv tört elő. Most a tömeget 500—600 légköri nyomással kisajtolta, mire belőle sárgásbarna átlátszó folyadék csordult ki. Kellő berendezéssel 4 óra lefolyása alatt 500 cm³ sejtnedvet gyűjthetett össze. Ilyen rövid ideig tartó eljárás az enzim működését nem károsította meg. A nedv valóban éppen úgy elerjesztette a cukrot, mint az élesztősejt maga. Az erjesztőtehetség pedig nem a netalán belekerült néhány élesztősejtnak tudható be. Bizonyíték erre az, hogy az erjedés fertőtlenítő anyagok jelenlétében is — melyek a szervezetet magát megölik — minden fennakadás nélkül tovább folyt, továbbá a mázatlan porcellánszűrőn keresztülszívott nedv szintén elerjesztette a cukoroldatot. Buchner tehát bebizonyította, hogy van élő sejttől mentes alkoholos erjedés is.

Ha növények és állatok egyes szerveit, vagy szövetrészeit, az élő szervezettől elválasztjuk, de azok kedvező körülmények közé jutnak, még sokáig megmaradnak élő állapotban. Felmerült most az a kérdés, vajjon a kisajtolt élesztőnedvben nem maradhattak-e meg a protoplazmának egyes élő részletei, melyek azután erjedést idéznek elő?

A bizonyítékok mind az utóbbi feltevés ellen szólnak. A kisajtolt nedv tudniillik éter-alkohollal megszárítható csapadékot idéz elő, melynek

glicerines oldata éppen olyan erjesztő hatású, mint az eredeti oldat. Élő protoplazmarészletek az éter hatása következtében mindenesetre elpusztulnának. A vákuumban beszárított nedv száraz állapotban hónapokig is eltartható, a nélkül, hogy erjesztőtehetsége megszűnnék.

Ezek és még egyéb, később tárgyalandó sajátságok mind azt bizonyítják, hogy az alkoholos erjedést előidéző anyag valóságos enzim, akárcsak a diasztáz, emulzin stb., melyeknek élettelen mivoltában soha senki sem kételkedett. Az alkoholos erjedést előidéző enzim neve zimáz.

Buchner vizsgálatai voltak a legfontosabbak az enzimfogalom kialakulására nézve. Most már eldönthetjük, vajjon Pasteur-nek vagy Liebig-nek volt-e igaza. Tulajdonképpen mind a kettőnek. Pasteur-nek: a mennyiben a zimáz létesüléséhez az élő élesztősejt szükséges, Liebig-nek pedig: a mennyiben az alkoholos erjedést nem maguk az élesztősejtek, hanem egy a sejttől elkülöníthető anyag, egy enzim indítja meg.

Miután az enzimfogalom kialakulásának történetét vázoltam, áttérek az enzimek jellemzésére és fontosabb sajátságait összefoglalóan tárgyalom.

Az enzimek tulajdonságairól általában.

A jelenleg elfogadott tudományos felfogás szerint az enzimek katalitikus tulajdonságokkal ellátott anyagok, melyeket élő sejtek termelnek, de melyeknek hatása nincsen a szervezet életfolyamatához kötve. E meghatározás alapján tehát az enzimek olyan kémiai folyamatokat gyorsítanak meg, melyek, bár lassan, maguktól is létrejönnének. Még egy jellemző tulajdonsága az enzimeknek, hogy működésük a legmesszebbmenő módon különleges.

Ez a rövid jellemzés bővebb magyarázatra szorul. Az enzimeket manapság mindenki anyagoknak tartja, noha tiszta enzim még senkinek sem volt birtokában. A kutatókban az a nézet gyökeresedett meg, hogy a különböző enzimek eddig fel nem derített kémiai szerkezetében rejlik különleges hatásuk. Fischer Emil, a nagy kutató, annyira meg van győződve, hogy az enzimhatás bizonyos atómcsoportok kémiai reakciója, hogy nem sajnálta a fáradságot arra, hogy az eddig jól ismert atómcsoportokat tartalmazó szerves vegyületeket végig próbálja, vajjon nem akad-e köztük olyanra, mely enzimhatásokat idézne elő. Csendes szemlélője voltam annak az évekig tartó eredménytelen munkának, melynek célja éppen egy kémiai tekintetben ismeretes enzim megkeresése volt. Napról-napra más szerves vegyületek hatását tanulmányozták nádcukorra, amygdalinra és α -methylglükózidra, a nélkül, hogy ezeken az anyagokon csak egy esetben is lehetett volna kétségtelenül enzimtermészetű hidrolízist észlelni.

Azonban az, hogy eddig nem sikerült enzimhatású, ismert összetételű szerves anyagot találni, nem ok arra, hogy ezzel a nézettel szakítsunk, vagyis hogy az enzimhatást ne az enzimek kémiai tulajdonságaiban keressük. Pedig, bár elvétele, ilyen felfogásra is akadunk. Vannak, a kik az enzimhatást kisugárzással magyarázzák, sőt az enzimhatás és a radioaktív jelenségek között is kerestek már analógiákat.¹ Mindezek azonban egyelőre teljesen alaptalan föltevések, melyek az enzimekre vonatkozó valódi ismereteinket alig gyarapítják.

¹ Arthus, La nature des enzymes. Doktori értekezés, Páris, 1896; Barendrecht, Zeitschrift f. physikalische Chemie, 49, 456 (1904); 54, 367 (1906); Körösy Kornél, Pflügers Archiv, 137, 123—143 (1910).

Elégedjünk meg egyelőre tehát azzal, hogy az enzimek olyan anyagok, a melyeknek különleges, eddig ismeretlen chemiai szerkezete teszi különös hatásukat lehetővé. Arról, hogy milyen anyagok szerepelnek köztük, még alig tudunk valamit. Vannak a készítmények között olyanok, a melyek a proteinreakciókat mutatják (pl. emulzin, pepszin); de vannak olyanok is (pl. a diasztáz), melyeknél az erős enzimhatás dacára, ezek a reakciók nyomokban sem mutatkoznak. Egyetlen közös sajátsága van a legtöbb enzimnek: ez a kolloidális természet. Az enzimhatások magyarázata szempontjából ez a tulajdonság nagyon fontos, a mennyiben a kolloidok nagy felülete ebben a magyarázatban lényeges szerepet visz.

Áttérhetünk most az enzimeknek mint katalizátoroknak tárgyalására.

Ostwald szerint katalizátor olyan anyag, mely a chemiai reakciónak sebességét megváltoztatja a nélkül, hogy a reakció végtermékei között megjelenék. Természetes, hogy nem minden folyamat alkalmas arra, hogy sebességében változást lehessen előidézni. Az ionreakciók pl. a gyakorlat szempontjából egy pillanat alatt végbemennek. Ha erős lúgot erős sav oldatával elegyítünk, nyomban só keletkezik, mint azt a titrálás mutatja. Ilyen esetben katalitikus hatásokat észlelni sem lehetne. Vannak azonban olyan folyamatok, melyek a végállapotuk eléréséig mérhető időt igényelnek. Például szolgálhat erre az éterek elszappanosítása alkalifémhydroxidok hatására. Ilyen reakciónál már jelentékeny szerepet játszhatnak a katalizátorok. Számos szervetlen katalizátort ismerünk: ilyen a hidrogénion, mely savak vizes oldatában pl. a nádcukornak glükózra és fruktózra való bomlását gyorsítja; ilyen a finoman eloszlott platina, továbbá a vas- és a mangánsók, melyek számos reakciónak sebességét tetemesen meggyorsítják. Bayliss W. M. jó hasonlattal érzékíti a katalitikus hatásokat. Képzeljünk sima üveglejtőt és tetején fémsúlyt; legyen a lejtő hajlásszöge olyan, hogy a súly csak nagyon lassan csusszék lefelé. Ez a rendszer felelne meg olyan chemiai reakciónak, mely katalizátor nélkül hosszabb időt vesz igénybe. Ha most a súly csúszó felületét olajjal kenjük be, az sokkal gyorsabban fogja elérni a lejtő alját, mint olajozás nélkül. Az olaj volna e hasonlatban a katalizátor.

A meghatározásból az következik, hogy a katalizátor csak gyorsít olyan reakciót, mely magától is, bár lassan, lefolynék. Legtöbbször azonban az ilyen reakciók oly lassan mennének végbe maguktól, hogy a reakciónak kimutatása sem sikerül. Ilyen eset például az, a mikor hidrogén- és oxigéngáz áll egymással szemben. Platinatapló-katalizátor jelenlétében a kettő könnyen egyesül egymással vízzé, míg katalizátor nélkül közönséges hőmérsékleten semmiféle reakciót sem lehet észlelni a gázelegyenben. Az, hogy a két gáz között, bár végtelen lassan, ilyen-

kor is reakció megy végbe, abból következtethető, hogy a hőmérséklet emelkedésével, mi közben, mint tudjuk, a reakciósebesség 10 fokként átlag megkétszereződik, a két gáz egymásra való hatását már észre lehet venni. Valóban 500 foknyi hőmérsékleten már mérhető mennyiségű víz keletkezik katalizátor nélkül is. Közönséges hőmérsékleten évszázadoknak kellene eltelnie, a míg néhány tizedmilligramm víz keletkeznék, s épp ez az oka annak, hogy a platinapló jelenléte folytán óriási módon megnövekedő reakciósebesség azt a látszatot kelti, mintha a katalizátor indította volna meg a reakciót.

A legtöbb enzimreakció szintén olyan természetű, mint az említett hidrogén- és oxigéngáz példája, vagyis, hogy az enzim jelenléte nélkül a reakció lefolyását észlelni nem lehet. Úgy mint az előbbi esetben, itt is sokszor következtetni lehet azonban arra, hogy a kémiai folyamat enzim nélkül is, bár nagyon lassan, végbe megy. Nagyon sok enzim hidrolitiseket végez, még pedig fölös mennyiségű víz jelenlétében. Azt is tudjuk azonban, hogy a vízben hidrogén- és hydroxyl-ionok vannak, melyek hidrolizáló hatásra alkalmasak. Az iónkoncentráció közönséges hőmérsékleten ugyan kicsi, azonban a hőmérséklet emelkedésével tetemesen növekedik, mint azt Kohlrausch következő mérései mutatják:

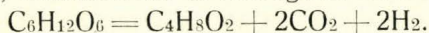
Hidrogénion-konzentráció 1 liter vízben:

0 ⁰ -on	0.35 × 10 ⁻⁷
18 ⁰ -on	0.80 × 10 ⁻⁷
50 ⁰ -on	2.40 × 10 ⁻⁷

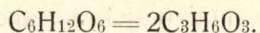
Az iónkoncentráció annyira növekszik a hőmérséklet emelkedésével, hogy 100^o-on már valóban észrevehető hidrolizist idéz elő a víz a nádcukor oldatában. Ezek alapján tehát bátran föltehetjük, hogy a nádcukor közönséges hőmérsékleten is, bár nagyon lassan, invertálódik a víz hidrogénionjainak hatására.

Míg némely esetben ez a magyarázat elfogadható, nem hallgathatjuk el, hogy a reakcióknak ilyen felfogása sok esetben meglehetősen erőltetett és nem is egykönnyen érthető. Így például nem lehet belátni, miért van az, hogy a pepszin, bár szabad sósav jelenlétében működik, a proteinmolekulák hidrolizisét csak a peptonokig végzi, s valószínűleg egész más kapcsolatokat old fel a proteinmolekulában, mint a tripszin, vagy a savak, melyeknek rövid ideig tartó hatása után már szabad aminosavak jelentkeznek. Arra sem találunk magyarázatot, hogy a diasztáz miért alakítja a keményítőt végeredményben máltózzá, míg a savak hatására beálló hidrolizis a glükózhoz vezet.

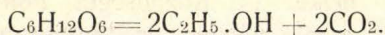
Még kevésbé érthető a glükóznak változatos átalakulásai, melyek a különböző enzimek hatására mennek végbe. A glükóz pl. a vajsavas erjedésnél vajsavra, széndioxidra és hidrogénre bomlik:



A tejsavas erjedés eredménye ugyanabból az alapanyagból tejsav:



Végül tudjuk, hogy a zimáz hatására a glükózból legnagyobbbrészt aethylalkohol és széndioxid létesül:



Fontoljuk meg továbbá, hogy a glükóz még valeriánsavas, sőt nyálkás erjedésre is képes s akkor nehéz mindezeket a folyamatokat az Ostwald-féle katalizátor-meghatározással kellőképpen megvilágítani.

Viszont az is igaz, hogy ezeknek a különféle irányban lefolyó reakcióknak analógiájaképpen ismét a Bayliss-féle hasonlatot véve szemügyre, nem lehetetlenség, hogy az enèrgia különféle alakban nyilvánulhat, éppen úgy, mint a lejtőn lecsúszó súly, a mikor nincs olajjal bekenve, a surlódás miatt hőt termel, míg ha gyorsan lejut a sikamlós pályán, főleg kinetikai energiát kap. El lehet képzelni ugyan hasonlót a glükóz különféle enzimes bomlására nézve is, de be kell vallanunk, hogy a jelenségek átlátszó értelmezésétől egyelőre még ugyancsak távol állunk. Mindössze azt mondhatjuk, hogy sok analógia van ugyan az enzimek és szervesetlen katalizátorok működése között, de azokat teljesen azonosítani, mint a hogy erre különösen Bredig hajlandó, egyelőre nem lehet. Ennek a különbségnek kifejezésére szolgáljon a bevezető jellemzésben az a kitétel, hogy „az enzimek katalitikus tulajdonságokkal ellátott anyagok, melyeket élő sejtek termelnek“. Az, hogy eddig az enzimekkel teljesen azonos hatást csak élő sejt termelte anyagokkal lehetett elérni, mutatja azt, hogy az enzimek és a szervesetlen katalizátorok között az analógiák dacára mélyreható különbségek is vannak. Azonban nem szabad elzárkózni attól a gondolattól, hogy idővel mesterséges, minden tekintetben enzimhatású termék előállítása sikerülhet. Sőt erre el kell készülnie, mert különben visszaesnénk ismét a Wöhler előtti vitalisztikus felfogásba. Egészen természetes, hogy mihelyt sikerülni fog pl. a diasztáz tulajdonságaival ellátott anyagot mesterségesen előállítani, senki sem fogja tőle megtagadni az enzim és a diasztáz elnevezést. A míg azonban szintézissel előállított enzim nincs birtokunkba, hogy annak sajátságait szervesetlen katalizátorokéval hasonlíthassuk össze, addig szervesetlen katalizátorok és enzimek között különbséget kell tennünk.

Daczára annak, hogy az enzimek élő sejtek termékei, a már kész enzimeknek működése nincsen a sejt életéhez kötve. Sok esetben az enzimeket oldószerekkel sikerül kioldani s hatásuk az élő protoplazmától való elkülönítésük után is érvényesül. Máskor sikerül megölni a sejteket, míg az enzimek zavartalanul tovább működnek. Némely enzimiról egy-

ideig azt tartották, hogy az élő protoplazma működésével oly szoros kapcsolatban van, hogy attól nem is választható el. Annyira gyökeret vert ez a nézet a kutatókban, hogy az enzimeknek két csoportját különböztették meg és szervezetes vagy *kialakult* enzimeknek azokat nevezték, melyeket a protoplazma életműködésének köréből kiragadni nem lehetett, míg a másik csoportot a *nem szervezetes* enzim névvel illették. Úgy gondolták, hogy az előbbieket mint *endoenzimek* csakis a sejtben végezhetik különleges működésüket, míg a *nem szervezetes* enzimek a sejtek váladékai (diasztáz, pepszin), melyeknek hatásköre mindig a külvilágban van. A szervezetes enzimek típusos példája éppen az élesztő volt, melynek erjesztő enzimeit kioldani jó ideig nem sikerült. Buchner érdeme, hogy ebben az esetben is beigazolta az enzim működésének függetlenségét a protoplazma életfolyamataitól. Módszerét, melyet azóta számtalan esetben alkalmaztak s mely abban áll, hogy a szétroncsolt élesztősejteket hatalmas nyomás alatt sajtolták ki, a zimáz előállításánál tárgyalom részletesen.

Ezzel Buchner a két úgyis erőltetett csoportba sorolt enzimek között föltett különbséget teljesen elsimította. Most a különbségek magyarázatára elég annyit felemlíteni, hogy vannak érzékeny és kevésbé érzékeny enzimek. A zimáz éppen az érzékenyek közé tartozik s ha nem nagyon óvatosan bánnak vele, tönkre megy. Minthogy mindig az élesztősejtek belsejében működik, természetes, hogy egész szokatlan körülmények közé jutva, csekély az ellentállása. Ezért elkülönítése a sejttől kifinomított módszerrel történik. Ezzel ellentétben a sejt által a külvilág számára kiválasztott enzimek jobban felveszik a harcot a külső viszonyosságokkal szemben, minek következtében ellenállásuk nagyobb, tehát a velük való bánás is könnyebb.

Az enzimek különleges működéséről.

Az enzimeknek nagyon érdekes és jellemző tulajdonsága, hogy legtöbbször különleges működésre alkalmasak. Hatásuk oly szűk körre szorítkozik, hogy ugyanaz az enzim úgyszólván csak egyetlen anyagra bír hatni, míg a szervetlen katalizátorok, mint pl. a hidrolizist gyorsítók, egész vegyületsorozat kémiai reakcióit gyorsítják. A különleges működés előidézésében jelentékeny szerep jut annak, hogy a növények és állatok testét felépítő és egymással reakcióra alkalmas anyagok túlnyomó részében asszimetriás szénatómok vannak. A vegyületek asszimetriás szintézise már a növények széndioxid áthasonításával kezdődik, a növénytáplálékkal pedig a növényevők szervezetébe már egyenesen asszimetriás anyagok kerülnek és ilyenek vesznek részt testük felépítésében. A növényevők közvetítésével végül a húsevő állatokban is asszimetriás vegyületek vannak. Az asszimetriás vegyületekről Van't-Hoff és

1e Be l korszakot alkotó fejtegetései óta tudjuk, hogy molekulájokban asszimétrías szénatómok vannak, melyekkel összefügg az ilyen vegyületeknek a poláros fényre gyakorolt hatása. Azóta ismeretes az is, hogy minden vegyület, a melyben asszimétrías szénatom van, két ellenlábas alakban lehet, mely egymáshoz olyan viszonyban áll, mint a kép tükörképéhez. Az egyik a jobbraforgató d-, a másik a balraforgató l-alak. A két ellenlábas vegyülete pedig a racém, vagy d,l-alak, mely a poláros fényre is hatástalan. Feltűnő, hogy a természetben rendszerint csak az egyik optikailag hatásos alak jelentkezik, minek következtében a chemiai átalakulásokat előidéző enzimek is csak az egyik alakra vannak beállítva.

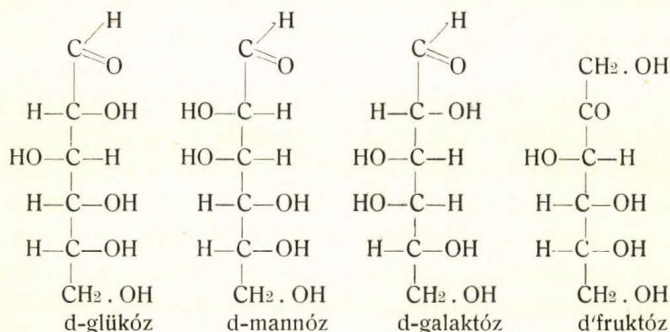
Már Pasteur észlelte, hogy ha a d,l borkősavnak ammónium-sóját csekély mennyiségű tápláló só jelenlétében vízben oldjuk és bele a *Penicillium glaucum* penészgomba spóráit oltjuk, a gomba fejlődésével az eleinte optikailag hatástalan oldat lassanként balra forgatóvá válik. A forgató tehetség egyre nő, míg végül állandó értéket ér el. Ezt a jelenséget csakis úgy lehet magyarázni, hogy a gomba szervezetének felépítésénél csak az egyik alakot — ebben az esetben a jobbra forgatót — tudja értékesíteni, minek következtében az l-alak érintetlen marad. Ez az észlelés a természetben nem található optikailag hatásos formák előállításánál, Pasteur óta nagy szerepet játszott, mert mindjárt magának a *Penicillium glaucum* penészgombának segítségével a d,l-alakokból a következő optikailag hatásos vegyületeket lehetett előállítani: d-mandulasav, d-asparaginsav, d-leucin, l-mannonsavlakton, l-glutaminsav, l-gliczerinsav.

Hasonló folyamat az is, mely akkor áll elő, ha cukrot d,l-leucin jelenlétében tiszta élesztőkultúrával erjesztünk. Ilyenkor, a mint azt Ehrlich Félix mintaszerű vizsgálatai óta tudjuk, a leucinból isoamylalkohol keletkezik. Az élesztő azonban csak a természetben a proteinek építő kövei között szereplő l-leucint bírja isoamylalkohollá alakítani, míg a d-leucin érintetlenül marad, s az anyalúgok besűrítése után kapható. Ugyanez a módszer az aminosavak legnagyobb részénél elvezet a természetben elő nem forduló és éppen azért máskülönben nehezen hozzáférhető optikailag hatásos alakhoz.

Az élesztő nemcsak az aminosavakkal, hanem a cukrokkal szemben is ilyen válogatós. A cukorcsoportban fennálló viszonyokat Fischer Emil vizsgálta kellő szakértelemmel. Az ő vizsgálataiból tudjuk, hogy az alkoholos erjedést előidéző zimáz is csak az egyik sztereoizomer alakból létesít alkoholt és széndioxidot. Az aldohexózok csoportjában ismeretes 16 optikailag hatásos cukor közül csak 3 erjeszthető. Erjeszthetők: d-glükóz, d-mannóz, d-galaktóz, ellenben ugyanezen cukroknak ellenlábasaira a zimáz már hatástalan.

Ugyanezt a sajátságot mutatja a fruktóz is, melynek d' alakja könnyen erjed, az l' alak ellenben nem.¹ Az enzimeknek a vegyület kémiai szerkezetéhez való alkalmazkodása éppen ezeken a példákon legszembeötlőbb, mert látjuk, hogy milyen csekély szerkezetbeli különbségek elegendők rá, hogy viselkedésük az enzimekkel szemben tökéletesen megváltozzék.

Fischer Emil vizsgálatainak alapján ismerjük a hexózok stereoizomer szerkezetét is, melyeket a következő szimbolumokkal lehet érzékíteni:

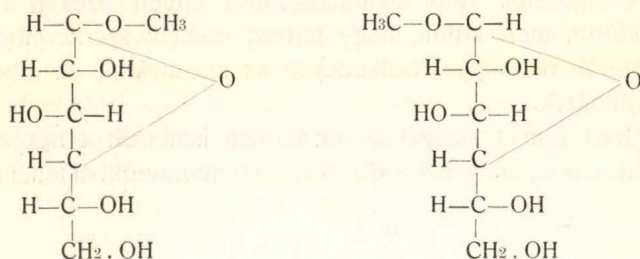


Egy pillantást vetve e képekre, látjuk, hogy a d-glükóz, d-mannóz és d'-fruktóz térbeli elhelyeződése nagyon hasonlít egymáshoz, ha a két felső szénatómot nem tekintjük. Ennek megfelelőleg e három cukor kémiai tekintetben is sok hasonlatosságot mutat és számos reakció kapcsolja őket egymáshoz. Elég legyen annyit felemlíteni, hogy a három cukor híg alkalifémhydroxid-oldattal melegítve, kölcsönösen egymássá átalakítható. Erjedés tekintetében is sok hasonlatosság van közöttük. A galaktóz térbeli elhelyeződése már kissé más; ezzel együtt jár az a tulajdonsága is, hogy általában sokkal nehezebben erjeszthető, mint a többi három cukor, sőt néhány élesztőfajta, mint például a *Saccharomyces apiculatus* és *S. productivus* teljesen hatástalan rá. A térbeli elhelyeződésben egyéb változások a többi sztereoizomer cukornál már a zimázzal szemben tanúsított teljes közönytől sárgával járnak.

A különleges enzimhatások másik fontos és az enzim kémiai sajátága tekintetében alapvető esete a sztereoizomer glükozidok viselkedése enzimkészítményekkel szemben. Vizsgálatukat szintén Fischer Emilnek köszönhetjük. Ő a glükózból sósavtartalmú metylalkohol segít-

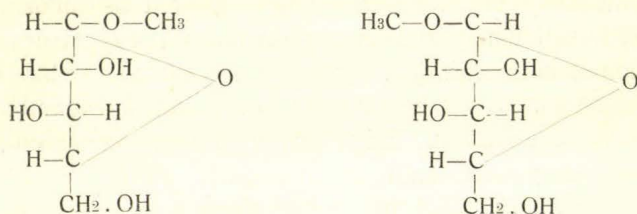
¹ A d' és l' jelzés Fischer Emil javaslata szerint azt mutatja, hogy a cukor valóságban ellenkező irányban hajlítja el a poláros fényt, mint a hogy neve mutatja. Mivel azonban a d jelzés azt fejezi ki, hogy pl. esetünkben a d-fruktóz melyik egyéb sztereoizomer alakkal van közeli rokonságban, (d-glükózzal és d-mannózzal), ezt a jelzést kell döntőnek venni.

ségével két methylszármazékot állított elő, melyek egymástól a legfelső szénatom asszimétriája következtében különböznek.



A két képnek megfelelő methyl-d-glükozidot az α és β jelzéssel különböztette meg. Mikor ezeknek viselkedését enzimekkel szemben tanulmányozta, kiderült, hogy az emulzin a β -glükozidot hidrolizálja, míg az α -ra hatástalan; ellenben a maltáz az α -glükozidot bontja methylalkoholra és d-glükózra. A l-glükóz hasonló methylszármazékait érintetlenül hagyják az enzimek.

Nagyon feltűnő, hogy az egy atómmal kevesebb szénatomot tartalmazó, teljesen hasonló térbeli elhelyeződésű sztereoizomér xylozidokra



teljesen hatástalan az emulzin, illetőleg a maltáz.

Hasonló különleges enzimhatásra még számos más esetben fogunk akadni, különösen akkor, mikor a tripszinnek hatását a polypeptidekre fogjuk megismerni.

Méltán hasonlította Fischer Emil az alapanyagokat és a hozzájuk különlegesen alkalmazkodott enzimeket a zárral, melyet csak a beleillő kulccsal lehet kinyitni. Azok után a finomságok után, melyeket az enzimeknél e tekintetben találunk, még a hasonlatban is csak a legpontosabban kidolgozott Wertheim-féle zárra gondolhatunk.

Az enzimek előállítására használható általános módszerek.

Az enzimek között vannak olyanok, amelyek sejtek váladékában jelennek meg, úgy hogy különös kioldó eljárások alkalmazása az enzim-oldat létesítése céljából nem szükséges. Példák erre a hasnyálmirigy váladékában előforduló tripszin, helyesebben tripszino-

gén, a nyál ptialinja stb. Ilyen esetekben csak arra kell törekedni, hogy a váladékban jelenlevő nem enzimanyagokat lehetőleg eltávolítsuk.

A legtöbb enzim azonban sejtek belsejében létesül és ott is marad, miért is előállításuknál őket a sejtől ki kell oldani.

Az ebbe a csoportba tartozó enzimek előállítása is különbözőképpen módosul. Mert míg egy részük oldószerrel a felduzzadt sejthártyán keresztül kioldható, addig a többiek csak akkor kaphatók meg, ha az őket tartalmazó sejteket előbb szétroncsoljuk. Az utóbbiak az ú. n. *endoenzimek*.

A kioldható enzimeknél oldószerképpen tiszta, vagy sókat tartalmazó vizet használunk. Nagyon ritkán rendkívül híg sav, vagy szódaoldat is alkalmas. Tekintetbe kell azonban vennünk, hogy a szóda jelenléte a legtöbb enzimre károsan hat. Természetes, hogy az enzim kioldása alkalmával egyéb kísérő anyagok, különösen pedig sók és proteinanyagok kerülnek az enzimoldatba.

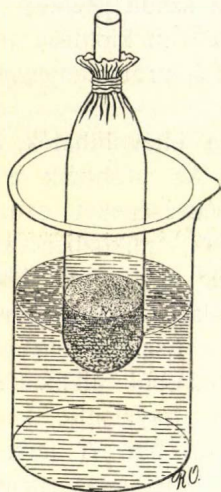
Míg a sók dialízis útján meglehetősen könnyen eltávolíthatók, a proteinek makacsul az enzim mellett maradnak. Az utóbbiak eltávolítása nagy és eddig még alig leküzdhető nehézségeket okoz. Legtöbbször az alkohollal való tisztítást használják, miközben az enzim és a protein is kicsapódik; de a proteinek egy része, különösen ha a csapadék hosszabb ideig áll alkohollal érintkezésben, vízben is oldhatatlanná válik, a csapadékból tehát már tisztább enzimkészítményt oldhatunk ki vízzel. A vizes enzimoldatból alkohollal szilárd enzimkészítményeket is kaphatunk. Azonban figyelemre kell méltatni, hogy az erős alkohol az enzimekre károsan hat. A mikor tehát csekély enzimmennyiségekkel van dolgunk, vagy pedig az enzim mennyiségét akarjuk megbecsülni, az alkohollal való kicsapást el kell kerülni. Ha a protein szennyezésbe belenyugszunk, de sokáig eltartható és hatásos száraz készítményt akarunk előállítani, van az alkohol alkalmazásának egy másik módja, melylyel az enzimet a káros hatástól megkímélhetjük. Az alkohol ugyanis csak akkor árt, ha vele egyidejűleg víz is van jelen. Ha azonban a kicsapásra alkohol és éter elegyét használjuk, a víz jelenlétét a csapadékban tetemesen csökkenthetjük. Csak arra kell törekednünk, hogy a csapadékot elkülönítése után lehetőleg gyorsan szárítsuk meg vákuumban. Még a feltűnően érzékeny zimázt is sikerült ennek a módszernek alkalmazásával száraz és eltartható készítmény alakjában előállítani.

Bizonyos esetben az enzimoldatból többé-kevésbé tiszta enzimkészítményt úgy választhatunk ki, hogy ammoniumsulfáttal vagy zink-sulfáttal csapjuk ki. Kivételesen azt az eljárást is alkalmazhatjuk, hogy az enzimtartalmú oldatban csapadékot idézünk elő, mely az enzimet magával ragadja. Ilyen eset pl. az, mikor az urikázt (l. o.) nátrium-

phosphátnak eczetsavas uránnal keletkezett csapadékához kötjük s az enzimet belőle utólag lúgozzuk ki.

Az enzim kioldására gyakran másik oldószert is használnak, még pedig a glicerint, mely sok enzimet felold. Ennek a módszernek előnye, hogy aránylag kevés proteinanyag kerül a készítménybe; továbbá az oldat sokáig eltartható, a nélkül, hogy enzimhatása lényegesen csökkenne. A glicerinsoldatok baktériumok ágyának is nagyon kedvezőtlenek, miért is külön fertőtlenítő szerre nincsen szükség. Különösen tripszin- és pepszinkészítmények előállításánál kedvelt oldószert a glicerint.

Az enzim kioldására némelykor nagyon előnyös a kioldandó anyag előzetes megszáritása. Ilyen eset az, a mikor maltáz-oldatot akarunk élesztőből előállítani (l. o.).



1. rajz. Halhólyag-dializátor.

Az endoenzimek készítése céljából legtöbbször a Buchner-féle kitűnően bevált eljárást alkalmazzuk. Lényege az, hogy az endoenzimet tartalmazó sejteket kvarcchomokkal és kovafölddel eldörzsöljük. A kvarcchomok a sejtek falát szétromcsolja, a kovaföld pedig szűrőképpen szerepel, a mikor a tömeg levét hatalmas nyomással kisajtoljuk.

A kisajtott nedvet vagy egyenesen enzimdalképpen használjuk, vagy pedig száraz készítménynek dolgozzuk fel. A módszert részletesen megismerjük a zimáz tárgyalásánál.

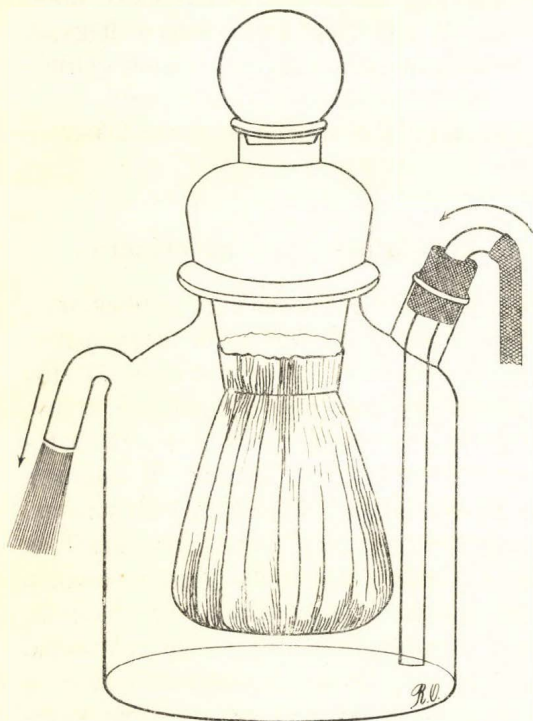
Vannak azonban endoenzimek, melyek még 600 légköri nyomás alatt sem mozdulnak ki a szétromcsolt sejtéből. Ezeket csak úgy kísérhetjük figyelemmel és úgy tanulmányozhatjuk működésüket, ha előbb az őket tartalmazó sejteket méreggel megöljük. Az enzimek ilyenkor túlélnek a megölt protoplazmát. De nem minden protoplazmaméreg alkalmas erre a célra, mert legtöbbször a halálküzdelemben az enzim is tönkre megy. Ismét Buchner volt az, a ki ebben az esetben is kifogástalan módszert bocsátott rendelkezésünkre. Az ő ajánlatára acetont hatásának vetjük alá az élő sejteket. Ez a szer olyan gyorsan öli meg a protoplazmát, hogy még a legérzékenyebb enzimek is megtartják működésüket. Ezt a módszert az úgynevezett „acetonos-élesztő” készítmények tárgyalásánál fogjuk megismerni.

Az enzimmészítmények tisztításánál jelentékeny szerepet visz a dialízis. Az enzimek állati hártján nem hatolnak keresztül, míg a kísérő anyagok egy részét, különösen pedig az ásványos alkotórészeket, ezen az úton elég könnyen eltávolíthatjuk. Nagyon jól beválik

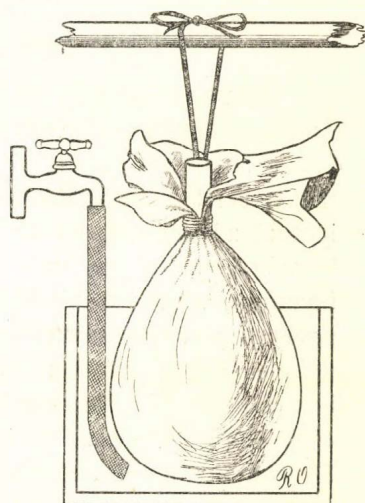
dializishártyának az ú. n. „halhólyagkondom“, mely a bárány megszárított vakbele.¹ Felső nyitott végét üvegcsőre kötözzük és a belet pohárba függesztjük; (lásd a rajzt).

A dializálandó anyagot óvatosan beleöntjük, de úgy, hogy a hólyag legfeljebb felényire teljék meg, a pohárba pedig annyi vizet öntünk, hogy a külső és belső folyadék szintje egyenlő magas legyen. A külső vizet naponta 2—3-szor megújítjuk, vagy pedig úgy rendezzük be a készüléket, hogy a víz állandóan megújuljon mint az a 2. rajzban látható.

A dialízis tartama esetenként változik. Két három napos dialízis mindig ele-



2. rajz. Dializátor állandó vízkeringésre berendezve.



3. rajz. Pergamentpapírból készített dialízis tömlő.

gendő. E hosszú művelet közben az enzimdátot, valamint a külső vizet is toluóllal védjük meg a baktériuminfekció ellen. Ha nagyobb mennyiségű enzimdattal dolgozunk, célszerűen használhatunk a dialízishez üvegcsőre erősített disznóhólyagot is. Sokszor pergamentpapiros is helyettesítheti az állati hártyát. A pergamentpapirost is üvegcsőre erősítjük (3. rajz), és akkora zacskót készítünk, a milyenre éppen szükség van. Egy 70×100 cm. nagyságú pergamentpapiros 3—4 liter tartalmú zacskót szolgáltat.

¹Előnyösen használható a 4-es számú minta, mely Reinhold H., Berlin, Bernburgerstrasse 14. cégnél kapható.

Az enzimek előállítására nézve általánosságban még néhány megjegyzést teszek.

Ha nagyobb enzimtartalmú oldatmennyiségeket kell bepárologatni, a műveletet mindig csökkentett nyomás alatt és olyan alacsony hőmérsékleten végezzük, a milyenen csak lehet. Enzimoldatokat sohasem szabad magas hőmérsékletnek kitenni s ha az előállítás sokáig tart, a munka félbeszakításakor jégszekrénybe tesszük az oldatokat. Száraz enzimmészítmények kevésbé érzékenyek magasabb hőmérséklet iránt, de ok nélkül ezeket se melegítsük és lehetőleg sötét helyen hagyjuk állani. Legcélszerűbb a száraz készítményeket levegőtől ritkított szárítóban kénsav fölött tartani, vagy pedig leforrasztott csövekbe zárni.

A készítmények előállításának minden műveletét végezzük lehetőleg gyorsan.

Az enzimhatás feltételeiről, kimutatásáról és követéséről.

Minthogy az enzimhatások legtöbbször 40° körül erősebbek mint szobahőmérsékleten, rendszerint gondoskodnunk kell arról, hogy a próbákat állandóan ilyen hőmérsékleten tartsuk. Leggyakrabban 37° -nyi hőmérsékleten végezzük a kísérleteket és csak kivételes esetben szabályozzuk a hőmérsékletet alacsonyabbra, vagy magasabbra. A kísérletek folyamán, melyek gyakran hosszabb időt vesznek igénybe, a könnyen bomló szerves reakciókeverékben gyorsan szaporodnának el a baktériumok. Ezeknek testében szintén erőses enzimek vannak, minek következtében teljesen megbízhatatlan eredményt kapunk, ha nem gondoskodunk a baktériumok távoltartásától. Baktériumok jelenléte okozta azt, hogy az enzimekről szóló régebbi irodalom úgyszólván teljesen hasznavehetetlen. A baktériumok távoltartása céljából a próbákat fertőtleníteni kell; a fertőtlenítő szer jelenléte azonban sajnos magára az enzimre sem káros. Ahoz t. i., hogy eredményesen kiküszöbölhessünk minden fertőzést, a használandó protoplazmaméreg fertőtlenítő szerekből akkora adag szükséges, mely már az enzimre is többé-kevésbé káros. Sokszor a fertőtlenítő szer hatása következtében az enzim hatásáról torzított képet kapunk.

Ilyen szerül legalkalmasabb még a toluol. Az enzimhatást nem nagyon rontja, továbbá a vizes folyadékok tetején úszik s így a külső fertőzéseket sikeresen elhárítja. Ha tehát a folyadék és az edény sterilis is volt, jótékony hatása bizonyos. Annyit kell vennünk belőle, hogy a folyadék felületén összefüggő hárttyát létesítsen a toluol.

Sok esetben a chloroformot is lehet alkalmazni, bár a legtöbb enzimre károsabban hat, mint a toluol. Ha vele a folyadékot össze-rázzuk, egyenletesebben oszlik el benne, mint a toluol, de viszont

gyorsabban kipárolog belőle, tehát gyakrabban kell megújítani. Protein-tartalmú oldatokat hosszabb időn keresztül chloroformmal eltartani nem lehet.

A nátriumfluorid kb. 0.3%-nyi mennyiségben kifogástalan fertőtelenítő. A folyadékban valósággal föl van oldva, megújításra nem szorul, s a lipáz kivételével az enzimekre nem káros. De nagy hibája, hogy a kísérlet után az oldatból csak nagyon körülményes és hosszú dialízis által távolítható el, tehát az enzimvesztesség elkerülhetetlen.

Ritkábban alkalmazott fertőtelenítő szerek a phenol, a thymol, a mustárolaj stb.

Az enzimek jelenlétéről úgy győződünk meg, hogy megfigyeljük, vajjon az oldat, vagy készítmény megfelelő alapanyagokban bír-e kémiai hatásokat előidézni. Az enzimhatás szigorú kimutatása e szerint a kiindulási és a keletkezett anyagoknak kémiai vizsgálatán alapszik.

Ha már többé-kevésbé tiszta, olyan készítményekkel van dolgunk, amelyekben csak egy enzim van, a kémiai vizsgálat nem ütközik különös nehézségbe. Nagyon bonyolítja azonban a feladatot, hogy legtöbb esetben enzimkeverékekkel van dolgunk, melyeknek tanulmányozása közben az egymás mellett lefolyó reakciók a reakciótermékek felismerését, meghatározását és a termékek jelenlétének helyes értelmezését módfelett megzavarják.

Az enzimhatások tanulmányozására használatos kémiai módszereket itt általánosságban nem tárgyalhatom. Az egyes enzimek tárgyalásánál ezeket a módszereket úgyis megismerjük.

Enzimhatások felismerésére és folytonos figyelemmel kísérésére sok esetben nagyon jól beválik az ú. n. *optikai módszer*. Azon alapszik, hogy az enzimhatás következtében keletkező reakciótermékek forgató tehetsége a kiindulási anyag forgató tehetségétől legtöbbször különbözik. A reakciókeveréknek bizonyos időközökben meghatározván optikai forgatótehetségét, nemcsak az enzimhatás jelenlétét mutathatjuk ki, hanem az átalakult anyag mennyiségét is meghatározhatjuk és az egész enzimreakció időbeli lefolyását figyelemmel kísérhetjük.

Néhány példán bebizonyíthatom, mennyire kényelmes és pontos az optikai módszer.

Ha a nádcukor bomlását tanulmányozzuk invertáz hatására, az enzim jelenlétét minőségileg úgy mutatjuk ki, hogy a kezdetben jobbraforgató oldatnak forgató tehetsége egyre csökken s a nullponton áthaladva, balraforgatásba csap át. A jelenség oka az, hogy a jobbraforgató nádcukor a jobbraforgató glükózza és a balraforgató fruktózza bomlik. A fruktóz azonban erősebben forgat balra, mint a glükóz jobbra, miért is végeredményben az oldat balra fog forgatni. Innen származik az inverzió név is. A nádcukornak, továbbá a glükóznak és a fruktóznak

forgatótehetsége nagyon gondos vizsgálat tárgya volt, miért is előre ki tudjuk számítani, hogy adott kezdeti forgatótehetség után, mekkora szögbeli különbséget kell leolvasnunk a készüléken, ha az inverzió teljes.

5⁰/o-os nádcukoroldat forgatótehetsége 20⁰-on

$$[\alpha]_D^{20} = +66.62^0$$

ugyanilyen töménységű invertcukoroldat forgatótehetsége

$$[\alpha]_D^{20} = -19.81^0$$

az utóbbi adat a keletkezett glükóz és fruktóz együttes forgatótehetségéből adódott ki.

$$2.5^0/\text{o-os glükózoldatra } [\alpha]_D^{20} = +52.55^0$$

$$2.5^0/\text{o-os fruktózoldatra } [\alpha]_D^{20} = -92.17^0$$

$$1/2(+52.55 - 92.17) = -19.81^0$$

a nádcukorra és inverziótermékeire tehát a következő minta érvényes

$$\begin{array}{c} \text{nádcukor} + 66.62 \\ \hline \text{glükóz} + 52.55 \qquad \text{fruktóz} - 92.17^0 \\ \hline \text{invertcukor} \quad 19.81^0 \end{array}$$

A mikor 342.18 g. nádcukor hidrolizálódik, 360.20 g. invertcukor lesz belőle. E szerint olyan mennyiségű nádcukornak, melynek inverzió előtt a forgatótehetsége $+\alpha^0$ volt, teljes inverzió után a forgatótehetsége

$$-\alpha^0 \times \frac{19.81 \times 360.20}{66.62 \times 342.18} = -\alpha^0 \times 0.313$$

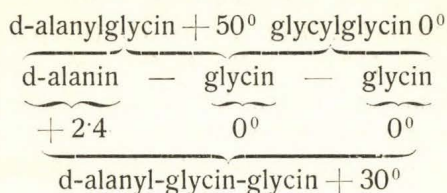
lesz.

Tudván tehát, hogy milyen szögelfordulás mellett éri el a hidrolízis végső értékét, bármely pillanatban kiszámíthatjuk a leolvasott α szögből, hogy az eredeti cukormennyiségből mennyi invertálódott.

Hasonló meggondolás alapján az optikailag hatásos polypeptidek hidrolizálásánál is nagyon jó hasznát vehetjük az optikai módszernek, különösen ha a kiindulási anyag és bomlástermékeinek forgatótehetségébe olyan nagy különbségek vannak, mint pl. a *d-alanyl-glycin* esetében, melynek optikai viszonyait a következő szimbolum mutatja.

$$\begin{array}{c} +2.4^0 \qquad \qquad \qquad 0^0 \\ \hline \text{d-alanin} \qquad \qquad \text{—} \qquad \text{glycin} \\ \hline \text{d-alanylglycin} + 50^0 \end{array}$$

A tri- és tetrapeptideknél, melyeknél a reakció iránya többféle lehet, az optikai módszer még szintén beválik. Nézzük pl. a következő tripeptidet:



A körülmények itt olyan kedvezők, hogy a forgatótehetség csökkenése mindjárt megmutatja, hogy a tripeptidből d-alanin válik szabaddá, míg a forgatótehetség emelkedése arra vall, hogy a tripeptid d-alanylglycinre és glycinre bomlott.

Nem szabad elfelejteni, hogy az enzimoldat maga is forgathat. Meg kell erről kísérletileg győződnünk s az esetleges forgatás mértékét az eredményből levonnunk.

Az ilyen meghatározások kiviteléhez fontos feltétel a kezdeti forgatótehetség ismerete. A mikor az enzimhatás azonban nagyon erőyes, az adathoz közvetlenül nem juthatunk, mert az alatt az idő alatt, míg a reakcióelegyet a megfigyelő csőbe öntjük és a készüléket beállítjuk, máris hatott az enzim. Ilyen esetben vagy kiszámítjuk az ismert forgatótehetségű anyag mennyisége szerint a kezdeti forgatás értékét, vagy pedig extrapolálással állapítjuk meg a kiindulási adatot. Az extrapolálási eljárások ugyan rendszerint nem ajánlandók, tapasztalat szerint azonban nem követünk el lényeges hibát, ha kicsiny időközökre nézve feltesszük, hogy az átalakult anyagok mennyisége az idővel arányos.

Ha pl. meg kell állapítanunk, hogy a következő enzimes folyamatnál mekkora a kezdeti állapot forgatótehetségének értéke, akkor figyelemmel kísérve a leolvasások sorozatát:

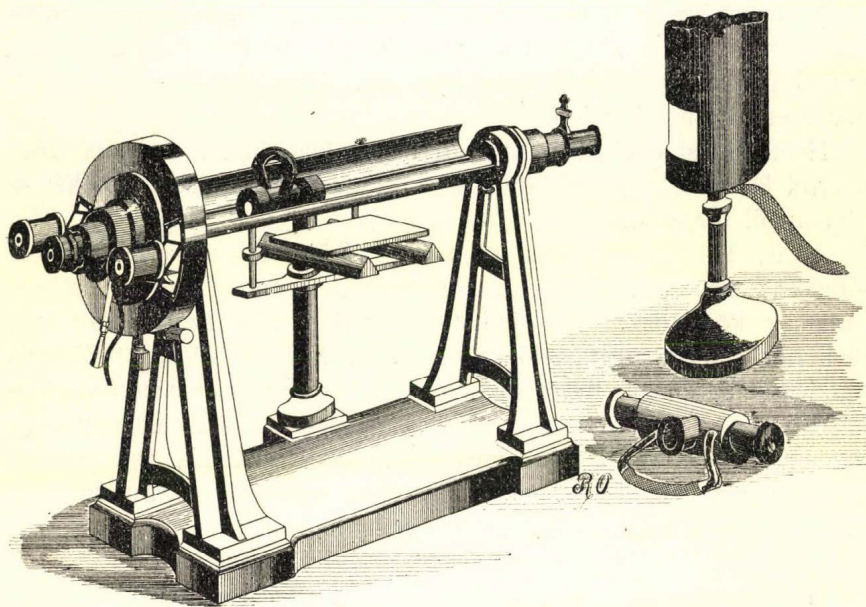
$\frac{1}{2}$ percz mulva	---	---	---	---	2.06 ⁰
1 " "	---	---	---	---	2.03 ⁰
$1\frac{1}{2}$ " "	---	---	---	---	2.00 ⁰
2 " "	---	---	---	---	1.97 ⁰
3 " "	---	---	---	---	1.91 ⁰

bátran feltehetjük, hogy a kezdeti szögérték 2.09⁰ volt.

Az optikai módszer olyankor is nagy előnyt nyújt, ha kiindulási anyagunk racémalak. Már a bevezetésből tudjuk, hogy az enzim rendesen csak az egyik, a természetben is előforduló alakra van beállítva, minek következtében a hidrolízis arról ismerhető fel, hogy a folyadék forgatótehetséget árul el. A forgatás megjelenése és időbeli változása tehát számot adhat a lefolyt reakcióról is.

Természetes, hogy az optikai módszer keresztülvitelénél a forgató-tehetség meghatározására és folytonos követésére a legnagyobb gondot kell fordítani. Ennek elérése céljából csak nagyon jó polarizáló készüléken végezzük a leolvasást. Ilyen a Landolt-Lippich-féle készülék, melyet a Schmidt & Hänsch-féle berlini cég gyárt (4. rajz).

Különösen alkalmasak olyan készülékek, melyeknél a közönséges nátriumgázlámpa helyett erős Nernst-féle lámpa van alkalmazva, melynek fénye prizmarendszeren szűrődik keresztül és így szolgáltatja a homogén D fényt. A látómező az utóbbi megvilágítás mellett hasonlíthatatlanul



4. rajz. Polarizáló készülék.

tisztább, a lámpa lobogásától benne semmiféle mozgás nem zavar s így a leolvasást sokkal élesebben és szemünk kimélésével végezhetjük.

A reakcióelegynek hosszabb ideig tartó optikai megfigyelésére nagyon alkalmasak az olyan csövek, melyek szintén a 4. rajzon láthatók. Előnyük az, hogy azokat a felső nyíláson tölthetjük meg, a kiálló toldalékba pedig még toluolt is rétegezhetünk, majd pedig dugóval a nyílást elzárhatjuk. Azonkívül palást is van rajtuk, melyet olyan hőmérsékletű vízzel töltünk meg, a milyennél a leolvasást végezni akarjuk. Ezzel a talált adatok pontosságát és megbízhatóságát segítjük elő. Legújabbban Abderhalden Emil¹ rendkívül kényelmes, elektromos úton fűthető berendezést eszelt ki, melyet a polarizáló készülékre lehet szerelni.

¹ Abderhalden Emil, Zeitschrift f. physiolog. Chem., **84**, 300—305. (1913.)

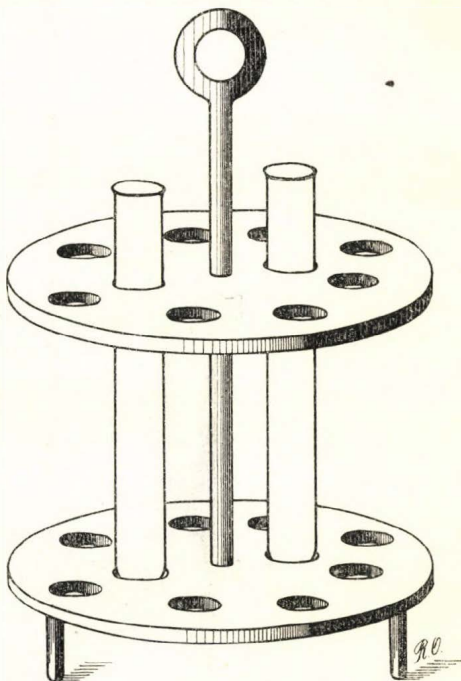
Ebben a csövek a revolver dobjában elhelyezett töltények módjára jutnak egymásután az észlelési térbe és állandóan a kívánt hőmérsékleten maradhatnak.

Az optikai módszer különösen az enzimhatás megelésére nagyon alkalmas. Segítségével, A b d e r h a l d e n és tanítványai az érdekes észleletek egész sorát állapították meg. Így pl. azt találta, hogy a vérsavó és pepton, illetve nádcukoroldat elegyének forgatótehetsége normális állatnál állandó. Ha azonban a bélcsatorna elkerülésével bizonyos anyagokat, például peptont, nádcukrot stb. juttattak az állatba, a vérsavó és az előbb említett alapanyagok elegyének forgatótehetsége megváltozott. Ez a jelenség mutatta tehát meg, hogy az állat vérplazmájában az adott körülmények között a megfelelő proteolites, illetve szénhidrátot bontó enzimek keletkeznek.

Az enzimhatás állandó megfigyelésére ez idő szerint határozottan az optikai módszer a legalkalmasabb. Különös esetekben találkozunk azonban olyan módszerrel, mely a reakcióelegy egyéb tulajdonságainak változásán alapszik. Néhanyszor például jól lehetett a proteolites enzimek működését a folyadék elektromos vezetőtehetségének mérése útján követni.

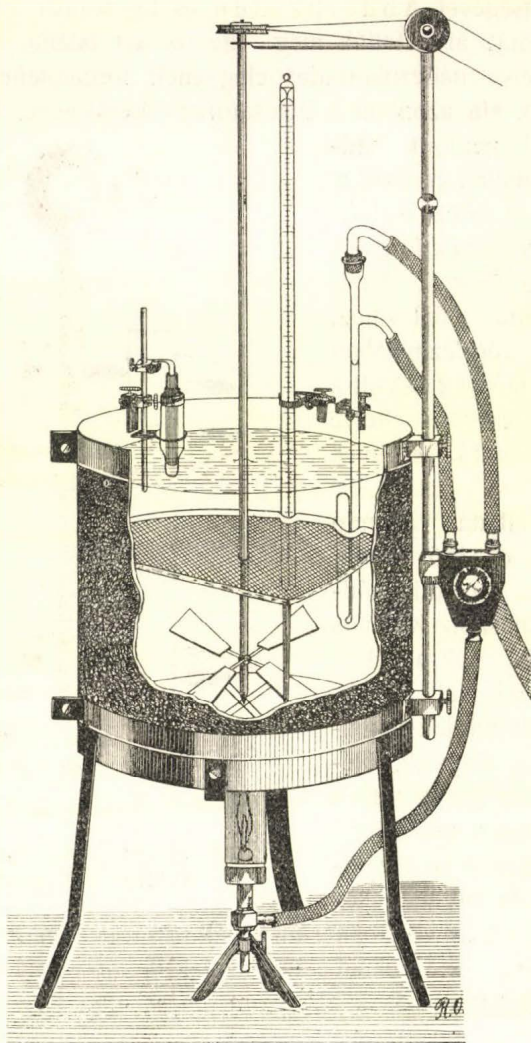
A reakcióelegy viszkozitásának változását is ajánlották már hasonló célokra, továbbá oxidázoknál alkalmaztak kolorimetriás eljárásokat, a mikor szintelen leukobázisok az enzim hatása alatt festékanyagokká alakulnak.

Az enzimhatásnak mennyiségi meghatározásoknál bizonyos idő letelével végét kell szakítani. Az eredményekre nem mindegy, hogy miképpen történik ez. Lassan lefolyó reakcióknál bátran felforralhatjuk az oldatot, hogy az enzim tönkremenjen. Gyorsan lefolyó reakcióknál azonban, tekintve, hogy az oldat felforralásához is elég idő szükséges, a módszer nem ajánlatos, mert a reakcióelegy éppen olyan hőmérsékletek sorozatát járja át, mely az enzimhatást eleinte rohamosan meggyorsítja. Ha minden-



5. rajz. Próbacső állvány, próbáknak vízfürdőben való melegítésére.

képpen szükséges, hogy ilyen esetben az enzimet hőhatás útján tegyük tönkre, czél szerű a reakcióelegyet vékony sugárban forró vízbe önteni. Sokszor azonban nem előnyös az oldatot ekként hígítani fel. Ilyenkor alkalmazhatunk lehűtést 0^0 -ra. Még gyökeresebb megoldás az, ha a

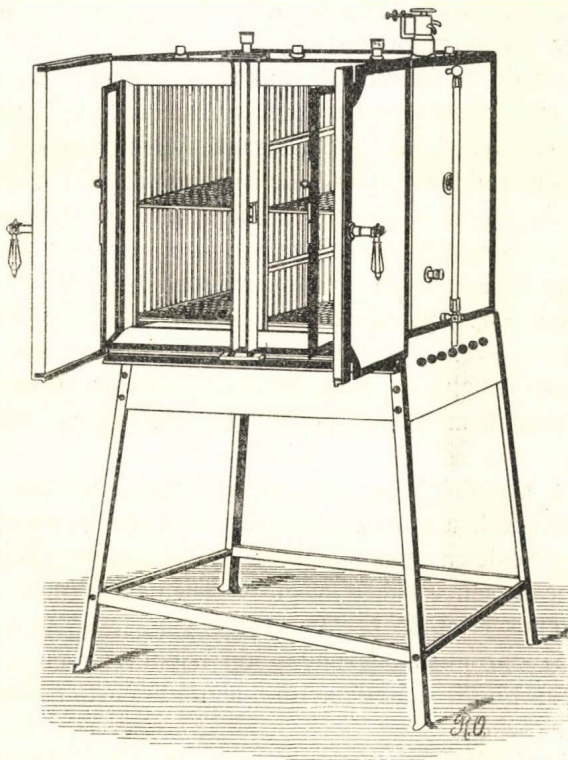


6. rajz. Oswald-féle termosztát.

reakció tömeget hűtőkeverékkel megfagyasztjuk s ilyen állapotban tartjuk el addig, a míg az vizsgálat alá kerülhet. Ha lehetséges, akaszszuk meg az enzim hatást mindig úgy, hogy chemiai úton történjék az enzim megölése, például lúgok, vagy pedig az enzimet kicsapó anyagok hozzáadásával.

A hőmérséklet hatása az enzimes reakciókra.

Az enzimek a hőmérséklet változásával a reakciókat nagyon eltérő mértékben gyorsítják. Ha tehát enzimhatást tanulmányozunk, legtöbb esetben szükséges kikeresnünk a legjobb (optimális) hőmérsékletet, melyen az enzim működése legkedvezőbb, továbbá a hőmérsékletnek azon legfelső, esetleg legalsó határát, melyen túl az enzim



7. rajz. Költőszekrény.

működése már megszűnik. Ilyen esetekben mindig állandó hőmérsékletről kell gondoskodnunk, ennek a feltételnek pedig szigorúan eleget kell tennünk olyankor, a mikor az enzimhatást mennyiségileg akarjuk figyelemmel kísérni. Legjobb tehát, ha kezdettől fogva megszokjuk, hogy az enzimes reakciókat állandó hőmérsékleten végezzük. Minőségi kísérleteknél általában a 37° -nyi állandó hőmérsékletet szoktuk alkalmazni. Esetenként természetesen, különösen mennyiségi kísérleteknél a hőfok rendkívül különböző lehet. Rövid, csak néhány órahosszat tartó kísérletnél e célra feltétlenül vízfürdőt kell alkalmaznunk, mert az ú. n.

költőszekrényben az elhelyezett edények és a bennük lévő folyadékok csak órák múlva veszik fel a környező levegő hőmérsékletét.

Előzetes kísérleteknél mindég kielégítő közönséges vízfürdő, melyet kellő hőfokra melegítünk s a lámpa szabályozásával tartunk kb. 1° -ig állandó hőmérsékleten és a vízbe állítjuk a drótkosárba, vagy a 5. rajzban látható állványba helyezett próbákat. Legjobb a vízfürdőt thermoregulátorral ellátni, s akkor a lámpa magától szabályozódik, úgy hogy a fürdő hőmérséklete állandó marad. Mennyiségi meghatározásoknál, különösen ha az enzimreakció sebességét akarjuk megmérni, az Ostwald-féle thermostatot használjuk

A 6. rajzból a thermostat működése minden magyarázat nélkül könnyen megérthető. Már sokkal célszerűbben használhatjuk az ú. n. költőszekrényeket, ha a reakcióelegynek napokig, sőt hetekig kell állandó hőmérsékleten maradnia. Mennél nagyobb a szekrény, annál biztosabban érhetjük el az állandó hőmérsékletet. Nagyobb intézetekben akkora költőszekrényeket alkalmaznak, mint egy-egy kisebb szoba. Kettős ajtajukon keresztül bemehetünk magunk is s úgy helyezhetjük el próbáinkat. Akár rázógépet járathatunk benne állandó hőmérsékleten.

Ha azonban ilyen kényelmes berendezés nem áll rendelkezésünkre, célszerűen használhatunk olyan költőszekrényeket, mint a milyen a 7. rajzon látható s mely thermoregulátor segítségével állandó hőmérsékleten tartható.

Az enzimhatás élénksége növekszik ugyan egy darabig a hőmérséklet emelkedésével, a reakciósebesség azonban rendszerint aránylag alacsony hőmérsékleten maximumot ér el, melyen fölül az enzimhatás többé-kevésbé lassan csökken, végül teljesen megszűnik. Az optimális hőmérséklet rendszerint 35 és 50° között van, míg az a hőmérséklet, melyen fölül az enzimhatás bizonyos idő leteltével megszűnik, legtöbbször nem magasabb 70° -nál. 0° körül a legtöbb enzimreakció sebessége még rendkívül csekély.

A következő táblázatban össze van állítva az enzimreakciók optima, illetőleg felső határa. Meg kell azonban jegyezni, hogy az adatok csak általános tájékozódást nyújthatnak. A jellemző hőmérsékleti adatok t. i. annyira ingadoznak a mellékkörülményektől, különösen a kísérő anyagoktól, a közeg kémhatásától, sőt az alapanyagtól is függően, hogy pontos meghatározásokhoz csak a leggondosabb és minden mellékkörülményre tekintettel levő megfigyelések útján juthatunk. Ezt pedig men mondhatjuk el a táblázatban közölt valamennyi értékről, annál kevésbé, mert a régebbi szerzők ugyancsak keveset törődtek az említett tényezőkkel. Nagyon fontos továbbá tudni, hogy a hasonló meghatározásoknál mennyi ideig tartott a melegítés. Különösen az enzimhatás hőokozta megszűnésénél kell ezzel a körülménnyel számolni, mert hosszú

ideig tartó melegítés után, alacsonyabb hőmérsékleten megy tönkre az az enzim, míg rövid ideig magasabb hőmérsékletet is elviselhet. Megbízható adatoknál tehát a melegítés tartamának figyelembe vételét elmulasztani nem szabad.

Az enzimek működésének hőmérsékleti optimuma és felső határa.

	Optimum	Felső határ
Invertáz nádcukor jelenlétében	53—56 ⁰	50—55 ⁰
Maltáz { élesztőből	40 ⁰	55 ⁰
{ árpából	55 ⁰	—
Trehaláz	—	64 ⁰
Laktáz { növényi eredetű	—	75—80 ⁰
{ kerti árpa bélnedvéből	—	58—60 ⁰
Melibióz	50 ⁰	70 ⁰
Gentiánáz	—	75 ⁰
Amyláz Bac. anthracisből	—	70 ⁰
" sajtból	37 ⁰	50 ⁰ fölött
" zabból	—	90 ⁰
" —	60—65 ⁰	—
" árpából	20 ⁰	—
" nyálból	50 ⁰	70—74 ⁰
" hasnyálmirigyből	36—40 ⁰	—
Inuláz	55 ⁰	—
Szemináz	35—40 ⁰	—
Pektináz	—	62 ⁰
Emulzin mandulából	40—50 ⁰	70—80 ⁰
" élesztőből	—	55—60 ⁰
Mirozináz	—	80—85 ⁰
Lipáz hasnyálmirigyből	36—55 ⁰	—
" Lactarius sanguifluus gombából	45 ⁰	—
Szaloláz	20—37 ⁰	—
Monobutirináz	42—50 ⁰	—
Pepszin	50—55 ⁰	oldat 55 ⁰ , 2 ⁰ / ₁₀₀ só-sav jelenlétében 65 ⁰
Tripszin (élesztőendriptáz)	40—45 ⁰	—
Tripszin hasnyálmirigyből	50—55 ⁰	—
	protein jelenlétében	45 ⁰
Enterokináz	—	gyenge lúgos oldatban 30 ⁰ , alkoholos oldatban 80 ⁰
		gyenge lúgos oldatban 38 ⁰ , különben 65—67 ⁰
Leukoproteáz	55 ⁰	75—80 ⁰
Szerumproteáz	—	55 ⁰
Lactoproteáz	35 ⁰	76 ⁰
Árpaproteáz	60 ⁰	70 ⁰
Papain	80 ⁰	95 ⁰
Erepszin	38 ⁰	63 ⁰
Peptidáz hasnyálmirigyből	45—50 ⁰	—
" élesztőből	55 ⁰	—
Gelatináz	—	70 ⁰
Ureáz	glycerin v. nádcukor jelenlétében 48—50 ⁰	70—80 ⁰
Chimáz gyomorból	39—42 ⁰	koncentrált oldatban 70 ⁰ , lúgoldatban 40 ⁰
" parachimos	25—30 ⁰	—
" atropa belladonnából és evonymusból	90 ⁰	—
" ricinusból	47 ⁰	—
" lolium perenneből	46 ⁰	—

Pektáz	30°	—
Muczináz	—	60°
Thrombáz	—	60°
Amilokoaguláz	—	60—63°
Oxigenáz	—	70°
Peroxidáz	38—40°	semleges oldatban 66°, savanyú v. alko- holos oldatban 55°
Aldehydáz	60°	100°
Phenoláz	—	70—90°
Lakkáz (Rhus vermiciferából)	—	100°
Tirozináz (buzakorpából)	—	100°
" gombából	—	65°
Oenoxidáz	—	70—75°
		10%-os alkohol jelenlétében 60—70°
Urikáz	50—55°	—
Kataláz	40°	68—90°
Oxidoreduktáz	50—55°	60°
Alkoholoxidáz	gyenge lúgos kioldás mellett	90—100°
Tejsavbaktériumzimáz	30—40°	60°
Zimáz	28—30°	40—50°
Aldehydmutáz	—	100°

Néhány esetben a reakciósebességnek változását is a hőmérsék-
lettel megállapították kellő pontossággal:

Az enzim neve	Az alapanyag	Hőmérsékleti köz	$K_t + 10 : K_t$
étért bontó enzim	aetylbutyrat	20—30°	1:3
invertáz	nádcukor	20—30°	1:4
"	"	30—40°	1:5
"	"	40—50°	1:4
kataláz	hydrogénhyperoxid	0—10°	1:5
tirozináz	tyrozin	20—30°	1:5
amiláz	keményítő	20—30°	2:0
tripszin	Witte-pepton	15—25°	2:3
tripszin	kazein	20·7—30·7°	2:6
erepszin	"	15—25°	3:2
oltó	tej	30—40°	5:3
zimáz	czukor	15—25°	2:8

Az összeállításban szereplő K_t a t hőmérsékleten szereplő egyen-
súlyi állandót jelenti.

Általános megfigyelés, hogy az enzimek különleges alapanyagok
jelenlétében kevésbé érzékenyek a hőmérséklet emelkedésével szemben,
mint hogyha egyszerűen vizes oldatukat tesszük ki a hőhatásnak. Az
enzim tehát az alapanyag jelenlétében rendesen magasabb hőmérsék-
leten megy tönkre. Ez a jelenség a mellett szól, hogy az enzim alap-
anyagával chemiailag kapcsolódik. Enzimek glicerines oldata jobban
ellentáll a hőhatásnak, mint a vizes oldat.

Száraz állapotban sokkal kevésbé érzékenyek az enzimkészít-
mények. Az emulzin, a pepszin és tripszin eltűr több óráig tartó hevítést
100°-ra; a hasnyálmirigyből előállított lipáz 120°-on, az amiláz és ereptáz
pedig csak 130°-on megy tönkre. A gaultheráz még ezt a hőfokot is
kibírja.

Alacsony hőmérséklet — 50° -ig a legtöbb enzimre nézve ártalmatlan. Még erősebb lehűtéskor a legtöbb enzim tönkremegy. Némely enzim azonban, pl. a pepszin és a tripszin még folyós levegővel való lehűtés után sem veszíti el hatását.

A fénysugarak és elektromos áramok hatása az enzimekre.

Vizes oldatban fénysugarak is ártalmasok az enzimekre. A látható sugarak oxigén jelenlétében idéznek elő káros változásokat, melyeket az ú. n. szenzibilizátorok (pl. fluoreszkáló anyagok) nagyon gyorsítanak. Az ibolyántúli sugarak ellenben oxigéntől mentes térben is érvényesítik káros hatásukat. Némely enzim (emulzin, tripszin) működését a rádiumsugarak megakasztják, másokon (oltó tirozináz) hatást nem lehet észlelni, viszont az autolites enzimek működését a rádium sugarai gyorsítják. Az utóbbi folyamatnál hasonlóan viselkednek a Röntgen-féle sugarak is, melyek különben számottevően nem hatnak az eddig tanulmányozott enzimekre.

Váltakozó áramokkal szemben is legtöbb esetben közömbösen viselkednek az enzimek. Az amilázt gyenge áram erősebb működésre készíti, erősebb áramok káros hatásúak.

Chemiai szerek hatása az enzimekre, kinázok és koenzimek.

Chemiai beavatkozások az enzimek hatását rendszerint lényegesen módosítják és a szerek bizonyos mennyiségének jelenlétében az enzimek legtöbbször tönkremennek. Viszont olyan anyagok is vannak, melyek az enzimhatásra jótékonyak. A hatásos anyagok egyik csoportja magát az enzimet bénítja, vagy pedig fokozott működésre készíti. A bénítás olyan természetű, hogy a bénító anyag eltávolítása után sem fejt ki az enzim eredeti hatását.

De vannak olyan anyagok is, a melyek csak a reakció sebességét változtatják, tehát a szerint, hogy működésük iránya egybevág, vagy pedig ellenkezik az enzimével, hasznosak vagy károsak az enzimhatásra. Az ilyen hatások mechanizmusa sokszor abban rejlik, hogy az anyag az enzimmel chemiai reakcióba lép. Máskor a végeredményt az szabja meg, hogy az új anyag az enzim mellett jelen levő reakciót gyorsítja-e, vagy pedig a káros anyagot bénítja. Ilyen eset pl. az, a mikor a zimázra chinin hat; ebben az esetben a chinin nem egyenesen a zimázra jótékony hatású, hanem a mellette előforduló endotriptázt bénítja, miért is a zimáz erősebb működést fejthet ki.

A kísérő anyagok nemcsak az enzimre, hanem az általa változó alapanyagra is hatnak, még pedig legtöbbször azért, mert közöttük chemiai

átalakulások (pl. sókeletkezés) folynak le, minek következtében az alapanyag az enzimhatás befogadására többé, vagy kevésbé alkalmassá válik.

Ezeket az eseteket a gyakorlatban azonban nem lehet mindig észrevenni, mert rendszerint az észlelt enzimhatás eredője számos egymás mellett lefolyó gyorsító és lassító hatásnak s csak kevés esetben lehet minden egyes tényezőt és hatását fokról-fokra követni.

A hatásos anyagok között találunk olyanokat, a melyek valamennyi enzimre károsak s mint mérgek működnek.

Ilyenek a savak és lúgok, bizonyos töménységen felül, továbbá a fluoridok és a higanysóok. A higany káros hatása megszűnik, mihelyt a higany sót az oldatból eltávolítjuk, tehát a mérgezés nem maradandó. Az ózon a legtöbb enzimet tönkretesz, a formaldehyd hatása is általában káros, a tannin szintén; valószínűleg azért, mert kicsapja, vagy pedig adszorbeálja az enzimet.

Ezekkel ellentétben vannak olyan jótékony hatású, szerves eredetű anyagok, melyeknek működése a legkülönlegesebb módon van beállítva. Ismerünk néhány enzimet, melyek a különleges aktiváló anyagok nélkül semmiféle működést sem fejthetnek ki és viszont az aktiváló anyag semmi egyébbe nem pótolható. Az ilyen különleges anyagokat *kinázok*-nak nevezik. Jellemző példa erre a tripszin működése. Miként később részletesen látni fogjuk, a hasnyálmirigynek tiszta váladéka a proteinekre teljesen hatástalan. A váladékban tehát még nincs enzim, csak egy úgynevezett *zimogen* (vagy *profermentum*) erjesztőt létesítő anyag, (esetünkben a *tripszinogén*), melyből csak alkalmas körülmények között lesz tripszin. Mihelyt a tripszinogén bélnedvvel érintkezik, erélyes hidrolizáló hatást fejt ki, tehát átalakult tripszinné. Az eredmény onnan van, hogy a hasnyálmirigy váladékában előforduló *tripszinogént* a bélnedvben levő *enterokináz* aktiválja. Azt, hogy az aktiválás miben rejlik, biztosan eldönteni nem lehetett. A kutatók egy része az enterokinázban ismét enzimet lát, mely a különleges hatást előidézi, mások pedig azt tartják, hogy a profermentum a kinázzal a stöchiometria törvényei szerint vegyül. Az, hogy a tripszinogén aktiválása calciumsóok segítségével is előidézhető, első pillanatra a mellett szól, hogy itt sem teljesen különleges hatással van dolgunk. Ezzel azonban nem lehet összhangzásba hozni azt, hogy az enterokináz melegítéskor tönkremegy. Látszik, hogy ezen a téren még számos megoldatlan kérdéssel állunk szemben.

Másik fontos esetét a különleges aktiválásoknak az alkoholos erjedést előidéző zimáz tárgyalásánál fogom részletesen ismertetni. Itt is van egy anyag, az úgynevezett *koenzim*, mely az élesztőfőzetben fordul elő, tehát állja a meleget s melynek az a sajátja, hogy a magában hatástalan zimázt élénk működésre készíti. A különleges aktiválásoknak még számos esetével fogunk az enzimek részletes tárgyalásánál találkozni.

A különleges aktiváló anyagoknak mintegy ellentétei a különleges *paralizátorok*. Sok esetben az enzim reakció eredményeképpen jelentkező bomlástermékek is lassítják a reakciót. Így az alkoholos erjedés megszűnik, ha a reakcióelegy alkoholtartalma bizonyos határt elért. Hasonlóképpen a proteolites enzimek közül a peptidázok működése tetemesen csökken, ha a keletkező aminosavak a közegben maradnak. Ezek a jelenségek a kémiai mechanika törvényei szerint önként érthetők. Vannak azonban egész különleges, szerves paralizátorok, melyeket *antienzim* (antifermentum) névvel jelölnék s melyeknek működése nem olyan világos. Ilyen esettel állunk szemben a proteázok esetében, melyeknek működését a normális vérsavó csökkenti. A vérsavó ezenkívül még az ureáznak és az oltónak antienzimjeit is tartalmazza. Más esetben az antienzimek csak akkor jelentkeznek a kísérleti állat vérsavójában, ha előzőleg az állat vérébe a megfelelő enzimkészítményt fecskendeztük be. Nagyon sok enzimmél sikerült a reájuk beállított antienzimet is kimutatni. Jellemző tulajdonságuk az, hogy rendkívül különleges működésre képesek. Így a növényi eredetű lipázok antienzimje az állati eredetű lipázokra hatástalan. Ugyanezt tapasztalták az amilázra nézve is. Az antitripszinnek még különlegesebbek. Ha marha hasnyálmirigyéből készült tripszint libák vérébe fecskendeznek, a libák vérsavójában antienzim jelenik meg, mely reakciót lassító hatását csakis a marha tripszinjére terjeszti ki. A sertésből származó tripszinkészítmény működésére az antienzim teljesen hatástalan. Ezek a tények rendkívül fontosak, de világos értelmezésüktől még távol állunk. Az antienzimek is épp olyan érzékeny természetű anyagok, mint az enzimek. Részletesebb tárgyalásukba itt nem bocsátkozhatom, mert a kémia terét elhagyva, messzire, az immunitás útvesztőibe jutnék.

A közeg hidrogénionkoncentrációjának hatása az enzimhatásokra.

Az enzimek optimális működési tehetsége rendszerint nagyon szűk határok között ingadozó ionkoncentrációhoz van kötve. Mihelyt ettől a határtól az oldat kémhatása távolodik, észrevehetően csökken az enzimhatás, majd csakhamar meg is szűnik. Ez az optimális ionkoncentráció rendszerint közel áll a közömbös kémhatáshoz, de azzal a legritkábban esik össze. A legtöbb esetben gyenge savanyú kémhatás a legkedvezőbb. Kivételes esetben az enzim erősebben savanyú (pepszin), vagy gyengén lúgos (tripszin) közegre van beállítva. Ebből egyszersmind azt is könnyen beláthatjuk, hogy miért káros már aránylag csekély mennyiségű szabad sav, vagy lúg jelenléte a reakcióra. A sók hasznos, vagy káros jelenléte is sok esetben megmagyarázható azzal, hogy az oldat ionkoncentrációja az optimálishoz közeledik, avagy távolodik.

A régebbi szerzők ezt a tényezőt nem vették annyira figyelembe, mint a mennyire azt valóban megérdemli, pedig az ionkoncentrációnak ismerete éppen olyan fontos és jellemző, akárcsak az optimális hőmérséklet, vagy a reakció sebességének megállapítása és aránylag egyszerű módon keresztülvihető. Sőt hiába állapítjuk meg az optimális hőmérsékletet és a reakció sebességét. Az adatoknak értéke csak akkor van, ha tudjuk, hogy azok miféle ionkoncentrációra vonatkoznak.

A kutatók azonban legtöbbször megelégedtek azzal, hogy a savanyúság vagy lúgosság fokát a hozzáelegyített sav, vagy lúg mennyisége szerint adták meg és nem voltak tekintettel a sav, vagy a lúg disszociáció fokára, még kevésbé arra, hogy a vizsgálandó folyadék maga is megköthet savat, vagy lúgot.

Abban pedig nincsen kétség, hogy az elektrolites disszociációról alkotott ismereteink alapján, valamely oldatnak igazi „savanyúsági fokát” (Säuregrad) a hidrogénionok koncentrációja adja meg, ez pedig nem számítható egyszerűen az oldathoz elegyített savmennyiségbe, éppen mivel enzimhatásoknál olyan oldatokról van legtöbbször szó, a melyek proteinek is tartalmaznak, továbbá kísérő anyagok, pl. foszphátok stb. is lehetnek jelen, könnyen megeshetik, hogy az oldat ionkoncentrációja tetemesen eltér attól, a melyet a savmennyiség tiszta vízben feloldva mutatna. A proteinek is, meg a foszphátok is t. i. a savnak egy részét megkötik, miért is a hidrogénionkoncentráció kisebb lesz. Ha pl. két 0.1 n.-sósavunk van, melyek közül egyikben 1 g., a másikban 5 g. protein van feloldva, daczára annak, hogy az általános felfogás szerint, mindkettőben ugyanannyi sósav van, ionkoncentrációjuk lényegesen különbözik. Az enzimreakciók pedig éppen a valódi ionkoncentrációk szerint változnak, miért is azoknak ismerete és szabatos meghatározási módja az enzimek tanulmányozásában nagyon fontos.¹ Különösen a mikor az enzimreakciók sebességét tanulmányozzuk, elkerülhetetlen a hidrogénion koncentrációjának ismerete. A régebbi szerzőknek az enzimreakciók sebességére vonatkozó eltérő véleménye sokszor abban leli magyarázatát, hogy a közeg hidrogénionkoncentrációját nem vették számításba.

Ha a vizes oldatban a hidrogénionok koncentrációját C_H -val a hydroxylionokét C_{OH} -val, a nem disszociált vizét pedig C_{H_2O} -val jelöljük, a tömeghatás törvénye szerint

$$\frac{C_H \cdot C_{OH}}{C_{H_2O}}$$

¹ Sørensen S. P. L. Biochemische Zeitschrift, 21, 131—305. (1909); 22, 352—357. (1909).

összefüggés áll fenn. Ha az oldat híg, akkor a nem disszocíált vízmolekulák koncentrációja állandó, minek következtében a

$$C_H \cdot C_{OH}$$

szorzat is állandó marad. Tiszta vízre 18°-on ez az állandó Sørensen számos mérése szerint $= 0.72 \times 10^{-14}$ vagy más alakban írva $= 10^{-14.14}$.

A hidrogénionkoncentráció meghatározása kényelmesebb, mint a hydroxylioné, miért is mindig azt határozzuk meg, még akkor is, ha a folyadék lúgos és az oldatokat mindig hidrogénionkoncentrációjuknak felírásával jellemezzük. Olyan oldatot tehát, melynek hidrogénionkoncentrációja 0.01 normál, 10^{-2} -vel jelöljük, míg az olyan oldatot, melynek hydroxylionkoncentrációja 0.01 normál, a $10^{-12.14}$ kifejezés illeti, mert $10^{-12.14} \times 10^{-2} = 10^{-14.14}$. A tiszta víz hidrogénionkoncentrációja $10^{-7.07}$, mert $10^{-7.07} \times 10^{-7.07} = 10^{-14.14}$. A hidrogénionkoncentráció mértékét tehát a vizsgált oldat hidrogénionjainak normalitási szorzatával fejezzük ki és a 10-es számnak negatív kitevőjeként írjuk fel. Sørensen a kitevő számértékét *hidrogénionkitevőnek* nevezi és p_H -val jelöli. A hidrogénionkitevő tehát tiszta víznél $p_H = 7.07$. Mivel ez a jelölési módszer valóban kényelmes és különösen a folyamatok grafikai érzéktetésénél nagy előnyt nyújt, jó ha hozzászokunk.

A hidrogénionkoncentráció meghatározása.

A hidrogénionkoncentráció meghatározására ezidőszert két módszer van, melyet az enzimek tanulmányozásánál általánosan alkalmaznak. Az egyik az *elektrometriás* módszer, mely nagyon szabatos, de viszont elég körülményes, a másik a *kolorimetriás*, mely nem ad annyira pontos eredményeket, de rendkívül könnyen és gyorsan végezhető.

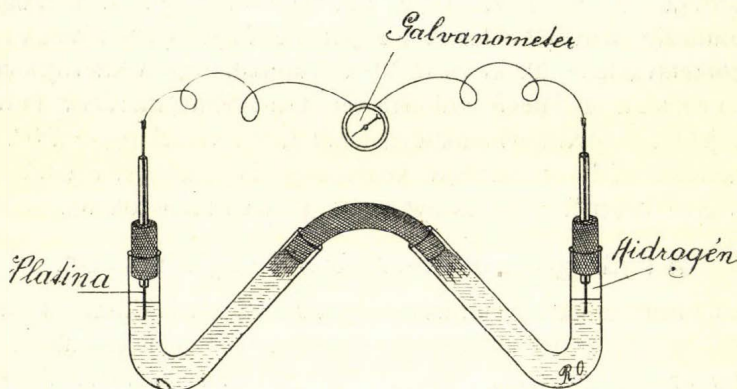
Az elektrometriás módszer. Ha platinakorommal bevont platinalemezt savanyú, közömbös, vagy lúgos vizes oldatba mártunk és az oldatot hidrogéngázzal telítjük, a platinalem és az oldat között potenciálkülönbség áll elő, melynek nagysága az oldat hidrogénionkoncentrációja szerint változik. Az oldat hidrogénionkoncentrációját tehát a potenciálkülönbség meghatározása útján számíthatjuk ki.

Ismeretlen folyadék hidrogénionkoncentrációjának megmérése tehát vázlatosan a következő módon történik (lásd 8. rajz).

Összeállítunk olyan galvánelemet, melynek mindkét elektródja hidrogénnel telített platina. Egyik elektród olyan folyadékba nyúlik bele, melynek ionkoncentrációja ismeretes, a másik pedig az ismeretlen ionkoncentrációjú oldatban van. A két folyadékoszlopot elektrolitvezetékkel, a két elektródot pedig fémes vezetékkel kötjük össze, majd pedig a keletkezett áram elektromotoros erejét megmérjük.

Az által, hogy a két folyadékoszlopot oldatvezetékekkel kapcsoltuk össze, a választófelületen ismét potenciálkülönbségek jelentkezhetnek, melyet

diffúziópotenciál-nak neveznek s melyet legczélszerűbb az által kiküszöbölni, hogy a potenciál elenyésző csekélységéről gondoskodunk. Ezt a feltételt olyan összekötő folyadék elégíti ki, mely nagyon könnyen oldható elektrolitnek lehetőleg koncentrált oldata, de azonkívül még az a sajátsága van, hogy anionjának, valamint kationjának is vándorlási sebessége teljesen egyenlő. Ilyen elektrolitet eddig kettőt ismerünk, a káliumchloridot és az ammoniumnitrátot. Az ammoniumnitrát bár jobban oldódik, lúgos oldatban nem használható, mert belőle ammonia válik szabaddá. Általános alkalmazást e szerint csak a káliumchlorid találhat. Ha lehetőleg tömény káliumchloridoldatot csatolunk összekötőoszlop gyanánt a két összehasonlítandó folyadék közé, a diffúziópotenciált legtöbb esetben 0.001 Volt alá szállítjuk le, a mi a gyakorlatban elhanyagolható.¹



8. rajz. A hidrogénionkoncentráció meghatározására szolgáló készülék vázlata.

Az elektromotoros erő megmérése nézve legalkalmasabb a Poggen-dorff és Du Bois-Reymond-féle kompenzációs módszer. Azon alapszik, hogy a meghatározandó elektromotoros erejű galván-elem áramkörébe szabályozható és pontosan ismert elektromotoros erejű galván-elemet kapcsolunk, úgy hogy az áram iránya a mérendőével ellenkező irányú legyen. Most addig szabályozzuk az ismert galvánelem elektromotoros erejét, különböző ellenállások bekapcsolásával, a míg a közbe kapcsolt galvanométer nyugalmi helyzetet nem vesz fel. Ebben az esetben a

$$\begin{aligned} \text{keresett elektromotoros erő (K)} &= \\ &= \text{ismert elektromotoros erő (I)} \times \frac{\text{ED ellenállás}}{\text{CD ellenállás}} \end{aligned}$$

A CD ellenállásképpen (lásd 9. rajzot a 36. lapon) használhatunk olyan hidat, mint a melyet elektromos vezetőhatségek meghatározásánál szokás

¹ Olyan kivételes esetekre nézve, a mikor a diffúziópotenciál káliumchlorid-oldat alkalmazása mellett nagyobb, lásd Bjerrum dolgozatát. Zeitschrift für physikal. Chemie, 53, 428, (1905).

alkalmazni, vagy még jobban két 1—1110 ohmos egymásután kapcsolt ellenállásszekrényt. Ismert elektromotoros erejű galvánelemnek legjobb egy akkumulátor, melynek elektromotoros erejét egy Weston-elem elektromotoros erejéből határozzuk meg, ugyancsak a most megismertetett elv alapján. Az akkumulátor elektromotoros erejének lehetőleg gyakori ellenőrzését ne mulasszuk el. A galvanométer helyett nagyon célszerű a kapillárelektrométer használata.

A megméréndő elektromotoros erejű galvánelem elektródjaiképpen legújabb időig hidrogénnel telített platinaelektrodokat használtak. Sokkal kényelmesebb, ha az egyik elektródot a Sørensen ajánlotta kalomel-elektróddal helyettesítjük, melyet a 10. rajzban láthatunk.

A középső *R* üvegcsőben platinadrót halad végig, az elektród többi részére nézve a rajz maga ad felvilágosítást. A kalomelektrodnak potenciálját Sørensen pontosan meghatározta és 18°-on $1/1$ normál hidrogénelektroddhoz képest 0.3377 Volt-nak találta. Ezzel az állandó adattal a galvánelem elektromotoros erejének meghatározása lényegesen egyszerűbbé válik, mert legalább az egyik elektródnál elmarad a hidrogénnek folytonos bevezetése és a kényes platinaelektrodok gyakori megújítása. Még egy előnye a kalomel-elektrodnak, hogy a diffúziópotenciálja bármilyen káliumchloridoldathoz képest $= 0$.

A hidrogénelektrodot a 11. rajz mutatja be.

A *Pt*-vel jelzett platinadrótot elektrolites úton bevonjuk platina-korommal. A kísérleti berendezés további részleteit helyszűke miatt mellőzve, utalok Abderhalden Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden című munkájára, melynek 5-ik kötetében (500—525. lap) Michaelis L. részletesen leírja a hidrogénionkoncenztráció elektrometriás meghatározását.

Ha az elektromotoros erőt (*K*) meghatároztuk, minthogy rendszeren kalomelektroddal dolgozunk, a talált eredményből levonunk 0.3377 Voltot és megkapjuk a potenciálkülönbséget $= E$ -t, melyből a hidrogénionkoncenztrációt a következő egyenlet alapján számítjuk ki:

$$\log [H^+] = \frac{E}{0.0001983 T}$$

ahol *T* az abszolút hőmérsékletet jelenti.

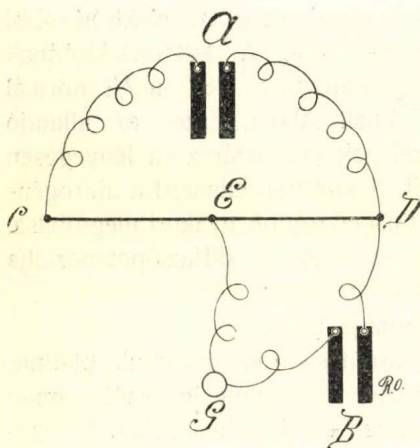
A kolorimetriás módszer.

A mikor az indikátor titráláskor átmenő színt mutat, ez arra vall, hogy az oldat akkor határozott, indikátoronként változó, hidrogénionkoncenztrációt ért el. Ettől az átmeneti színtől akár egyik, akár másik irányban távolódva, az oldat színárnyalata folyton változik. Ha most ezeket az oldatokat összehasonlítjuk olyan oldatok színárnyalatával, melyekben az ionkoncenztráció ismeretes és a hol ugyanaz az indikátor

van jelen, egyszerű módon és elég nagy pontossággal meghatározhatjuk az oldat ionkoncentrációját. Ez a kolorimetriás módszer Friedenthal és Salm-tól ered; azzal a formájával azonban, miként azt a szerzők használták, az enzimek tanulmányozásában eredményt elérni nem lehet. Mert van ugyan sok indikátor, mely egyszerű oldatban kielégítő adatokat eredményez, azonban akkor, ha az oldatban proteinek és azoknak hidrolites bomlástermékei vannak, a legtöbb indikátor teljesen felmondhatja a szolgálatot. Pedig éppen ezek az esetek mindennaposak az enzimek vizsgálatánál. Sørensen vállalta magára azt a nagy fáradságot, hogy kb. 100 különböző indikátort az enzimek tanulmányozása szempontjából gondosan megvizsgáljon és közülök kiválasztván azokat, melyek alkal-

masak, egyúttal pontosan megállapította azt a határt is, melyen belül az indikátor helyes eredményt ad.

A kolorimetriás módszer főfeltevése, hogy bármilyen ismert hidrogénionkoncentrációval bíró oldatot gyorsan és biztosan előállíthassunk, mert ezekkel összehasonlítva tudhatjuk csak meg az ismeretlen oldat ionkoncentrációját. E célból Sørensen ajánlatára olyan oldatokat kell mindig készen tartani, a melyeknek páronként összekegyítése útján a kívánt ionkoncentrációt megkaphatjuk. Valamennyi alapfolyadékban könnyen hozzáférhető és jól



9. rajz. A hidrogénionkoncentráció meghatározását ábrázoló vázlat.

eltartható chemiailag tiszta készítmények vannak feloldva. Ezek az oldatok, valamint az oldatelegeknek hidrogénionkoncentrációit a leggondosabban meghatározta Sørensen az elektrometriás módszer segítségével, az eredményeket pedig táblázatokban, valamint grafikusan is összeállította. Különösen a grafikon a gyakorlatban nagyon jó szolgálatot tesz, mert segítségével a kívánt hidrogénionkoncentráció előállításához szükséges oldatelegek adatait néhány pillanat alatt megtalálhatjuk. A grafikon megjelent Springer (Berlin) kiadásában.

Az alapoldatok, melyeket Sørensen a kolorimetriás módszer kiviteléhez ajánlott, a következők:

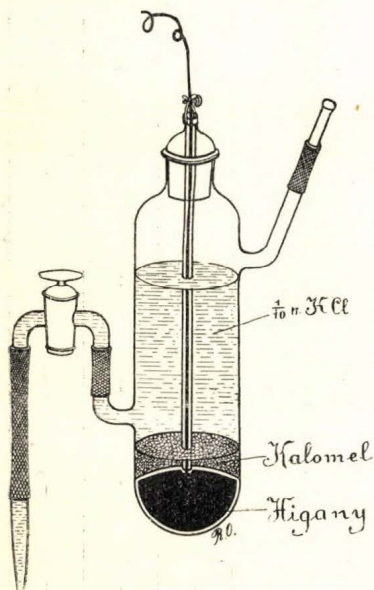
1. 0.1 normális sósav (rövidítve egyszerűen HCl).
2. 0.1 normális nátriumhidroxid (rövidítve egyszerűen NaOH).
3. 0.1 normális glükocholloldat, melyben még nátriumchlorid is van.

Egy liter oldatban 7.505 g. glükocholl és 5.85 g. nátriumchlorid van feloldva. (Az oldatot egyszerűen glükochollnak nevezzük.)

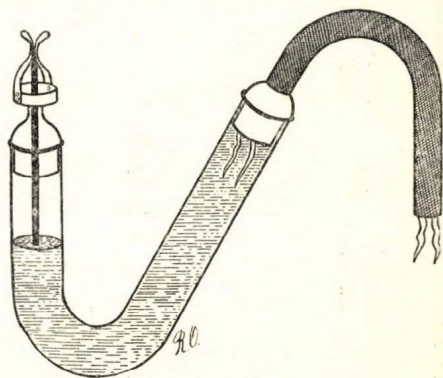
4. $\frac{1}{15}$ mólos elsőrendű káliumphosphát, melyben literenként 9·078 g. káliumdihydrophosphát van. Kahlbaum külön e célra készít újabban kielégítő tisztaságú anyagot (az oldat neve egyszerűen phosphát).

5. $\frac{1}{15}$ mólos másodrendű nátriumphosphát, mely literenként 11·876 g. dinátriumhydrophosphátot Na_2HPO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$ -t tartalmaz. (Az oldat neve egyszerűen másodrendű phosphát). Az alkalmazott só a tiszta, kereskedésbeli dinátriumhydrophosphátból úgy készítjük, hogy háromszori átkristályosítás után evegőn addig hagyjuk állani, a míg súlya nem változik, miközben a kristályok teljesen elmállanak. Ilyen állapotban aztán állandó összetételű marad.

6. 0·1 mólos másodrendű nátrium-citrátoldat. Úgy készül, hogy 21·008 g. citromsavat 200 cm³ normális ná-



10. rajz. Kalomelelektrod.



11. rajz. Hydrogénelektrod.

riumhydroxidban oldunk, majd egy literre egészítjük ki. (Az oldat neve egyszerűen citrát.)

7. Lúgos bórsavoldat. 0·2 g. mól. (12·404 g.) bórsavat 100 cm³ nátriumhydroxidban oldunk, majd egy literre hígítjuk. (Az oldatot egyszerűen *borat*-nak nevezzük).

Az oldatok készítéséhez szükséges anyagokat kellő tisztaságban kapjuk a Kahlbaum-féle készítmények alakjában. Feloldásukhoz mindig szénsavtól mentes vizet használunk és olyan Wulff-féle palaczkokban tartjuk el, melyek bürettával vannak felszerelve és úgy berendezve, hogy tartalmuk a levegő széndioxidjától el legyen zárva.

Ha az oldatokat páronként összekelegetjük, 1·173—13·066 ion-kitevővel bíró összehasonlító oldatokat létesíthetünk. Az elegyek készítése és elektrometriás úton meghatározott hidrogénionkitevője a következő táblázatban van összeállítva.

Glükocholl + HCl	H-ion-konzen- tráció kitevő	Citrát + HCl	p _H	Phosphat + másodrendű phosphat	p _H	Citrát + NaOH	p _H	Borat + HCl	p _H	Glükocholl + NaOH	p _H	Borat + NaOH	p _H
—	—	475 cm ³ Citrát + 5·25 cm ³ HCl	3·529	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	5 cm ³ Citrát + 5 cm ³ HCl	3·692	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	5·5 cm ³ Citrát + 4·5 cm ³ HCl	3·948	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	6 cm ³ Citrát + 4 cm ³ HCl	4·158	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	7 cm ³ Citrát + 3 cm ³ HCl	4·447	10 cm ³ Phosphat	4·529	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	8 cm ³ Citrát + 2 cm ³ HCl	4·652	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	9 cm ³ Citrát + 1 cm ³ HCl	4·830	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	9·5 cm ³ Citrát + 0·5 cm ³ HCl	4·887	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	10 cm ³ Citrát	4·958	0·1 cm ³ II.-r. Phosphat + 9·9 cm ³ Phosphat	4·976	9·5 cm ³ Citrát + 0·5 cm ³ NaOH	5·023	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	9 cm ³ Citrát + 1 cm ³ NaOH	5·109	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	0·25 cm ³ II.-r. Phosphat + 9·75 cm ³ Phosphat	5·283	8 cm ³ Citrát + 2 cm ³ NaOH	5·314	—	—	—	—	—	—

Glükocholl + HCl	H-ion-konzen- tráció kitevő	Citrát + HCl	p _H	Phosphat + másodrendű phosphat	p _H	Citrát + NaOH	p _H	Borat + HCl	p _H	Glükocholl + NaOH	p _H	Borat + NaOH	p _H
—	—	—	—	0.5 cm ³ II.-r. Phosphat + 9.5 cm ³ Phosphat	5.589	7 cm ³ Citrát + 3 cm ³ NaOH	5.568	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	1 cm ³ II.-r. Phosphat + 9 cm ³ Phosphat	5.906	6 cm ³ Citrát + 4 cm ³ NaOH	5.969	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	2 cm ³ II.-r. Phosphat + 8 cm ³ Phosphor	6.239	5.5 cm ³ Citrát + 4.5 cm ³ NaOH	6.331	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	3 cm ³ II.-r. Phosphat + 7 cm ³ Phosphat	6.468	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	4 cm ³ II.-r. Phosphat + 6 cm ³ Phosphat	6.643	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	5 cm ³ II.-r. Phosphat + 5 cm ³ Phosphat	6.813	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	6 cm ³ II.-r. Phosphat + 4 cm ³ Phosphat	6.979	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	7 cm ³ II.-r. Phosphat + 3 cm ³ Phosphat	7.168	—	—	—	—	—	—	—	—

Glükocholl + HCl	H-ion-konzen- tráció kitévő	Citrát + HCl	p _H	Phosphat + másodrendű phosphat	p _H	Citrát + NaOH	p _H	Borat + HCl	p _H	Glükocholl + NaOH	p _H	Borat + NaOH	p _H
—	—	—	—	8 cm ³ II.-r. Phosphat + 2 cm ³ Phosphat	7·381	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	9 cm ³ II.-r. Phosphat + 1 cm ³ Phosphat	7·731	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	9·5 cm ³ II.-r. Phosphat + 0·5 cm ³ Phosphat	8·043	—	—	5·75 cm ³ Borat + 4·25 cm ³ HCl	8·137	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	6 cm ³ Borat + 4 cm ³ HCl	8·289	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	6·5 cm ³ Borat + 3·5 cm ³ HCl	8·506	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	7 cm ³ Borat + 3 cm ³ HCl	8·678	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	7·5 cm ³ Borat + 2·5 cm ³ HCl	8·799	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	8 cm ³ Borat + 2 cm ³ HCl	8·908	9 cm ³ Glükocholl + 1 cm ³ NaOH	8·929	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	8·5 cm ³ Borat + 1·5 cm ³ HCl	9·007	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	9 cm ³ Borat + 1 cm ³ HCl	9·087	—	—	—	—

Glükocholl + HCl	H-ion-koncen- tráció kitevő	Citrát + HCl	p _H	Phosphat + másodrendű phosphat	p _H	Citrát + NaOH	p _H	Borat + HCl	p _H	Glükocholl + NaOH	p _H	Borat + NaOH	p _H
—	—	—	—	—	—	—	—	9.5 cm ³ Borat + 0.5 cm ³ HCl	9.168	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	10 cm ³ Borat	9.241	8 cm ³ Glükocholl + 2 cm ³ NaOH	9.364	9 cm ³ Borat + 1 cm ³ NaOH	9.360
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8 cm ³ Borat + 2 cm ³ NaOH	9.503
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7 cm ³ Glükocholl + 3 cm ³ NaOH	9.714	7 cm ³ Borat + 3 cm ³ NaOH	9.676
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6 cm ³ Glükocholl + 4 cm ³ NaOH	10.140	6 cm ³ Borat + 4 cm ³ NaOH	9.974
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.5 cm ³ Glükocholl + 4.5 cm ³ NaOH	10.482	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.1 cm ³ Glükocholl + 4.9 cm ³ NaOH	11.067	5 cm ³ Borat + 5 cm ³ NaOH	11.076
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5 cm ³ Glükocholl + 5 cm ³ NaOH	11.305	—	—

Glükocholl + HCl	H-ion-konzen- tráció kitévő	Citrát + HCl	p _H	Phosphat + másodrendű phosphat	p _H	Citrát + NaOH	p _H	Borat + HCl	p _H	Glükocholl + NaOH	p _H	Borat + NaOH	p _H
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4·9 cm ³ Glükocholl + 5·1 cm ³ NaOH	11·565	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4·5 cm ³ Glükocholl + 5·5 cm ³ NaOH	12·095	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4 cm ³ Glükocholl + 6 cm ³ NaOH	12·399	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3 cm ³ Glükocholl + 7 cm ³ NaOH	12·674	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2 cm ³ Glükocholl + 8 cm ³ NaOH	12·856	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1 cm ³ Glükocholl + 9 cm ³ NaOH	12·972	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10 cm ³ NaOH	13·066	—	—

Lássuk most, hogy miként alkalmazzuk adott esetben a kolorimetriás módszert. Ha a folyadék hidrogénionkoncentrációját még csak megközelítőleg sem ismerjük, meg kell előzetesen vizsgálnunk, hogy miféle összehasonlító oldat és miféle indikátorok fognak legalkalmasabbak lenni. Legkényelmesebben úgy járunk el, hogy előbb megvizsgáljuk az oldat kémhatását lakmuszpapirossal. Ha lúgos kémhatást tapasztaltunk, phenolphtaleinnal végezzük a próbát, ha pedig lakmuszsal savanyú kémhatást találunk, a metylorange-próbára térünk át. A szerint, hogy miként viselkedik az oldat a methylorange-zsal szemben, megtudhatjuk, hogy az oldat ionkoncentrációja miféle határok között keresendő. Tegyük fel, hogy olyan volt az oldat, melyen lakmuszsal savanyú, metylorange-zsal lúgos kémhatást észleltünk: akkor p-nitrophenolt választunk indikátorul, melynek átmenő színe a lakmusz és a metylorange átmenő színe közé esik. Ha a p-nitrophenol oldata, bár gyengén, de észrevehetően sárga színt ölt, arra következtethetünk, hogy ez az indikátor az oldat ionkoncentrációjának megállapításánál valószínűleg meg fog felelni.

Most lemérjük szintelen üvegből készült és lehetőleg teljesen egyforma nagyságú kémcsövekbe a következő phosphátelegeket:

10·0 cm³ elsőrendű phosphát

0·25 cm³ másodrendű phosphát + 9·75 cm³ elsőrendű phosphát

0·5 " " " + 9·5 " " "

1·0 " " " + 9 " " "

2·0 " " " + 8 " " "

3·0 " " " + 7 " " "

4·0 " " " + 6 " " "

5·0 " " " + 5 " " "

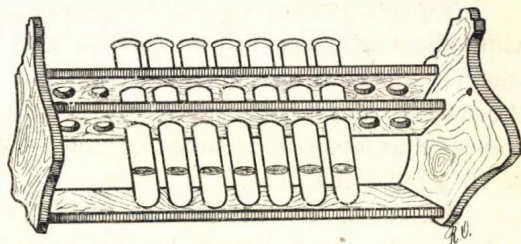
Most a vizsgálandó oldatból is lemérünk 10 cm³-t és valamennyi próbához a p-nitrophenol oldatból néhány cseppet öntünk, majd az oldatokat óvatosan összerázva, megkeressük, hogy az ismeretlen oldat színárnyalata melyik phosphátelegek színárnyalatához áll legközelebb. Ennél a műveletnél nagyon előnyös a 12. rajzban látható állvány használata.

Előnye az, hogy benne a csövek ferdén állanak és akadálytalanul nézhetünk a csövek tartalmán keresztül az alájuk helyezett fehér papíroslapra. Könnyen meg fogjuk találni azt a két próbát, melyek közé oldatunk színárnyalata beillik. Az összehasonlításra szolgáló sorozatot úgy kell választanunk, hogy a vizsgálandó oldat lehetőleg mindig a sor közepére, ne pedig a végére kerüljön, mert csak az előbbi esetben várhatunk megbízható eredményt.

A mikor lehetséges, az oldathoz jobbra és balra legközelebb álló oldat közé új összehasonlító oldatokat állítunk be, miáltal a meghatározás pontosságát tetemesen növelhetjük.

A kolorimetriás meghatározásoknál, a mennyire csak lehet, törekednünk kell arra, hogy vizsgálati oldatunk átlátszó és szintelen legyen. Ha ez semmiképpen sem lehetséges, akkor az összehasonlító próbáknak is ugyanezt a színárnyalatot, vagy opálizásálást kell megadnunk. A színárnyalatot *Bismarck-barnával*, *tropaeolin*-nal, *methylorange*-zal, *curcumin*-nal stb.-vel adthatjuk meg, míg a zavarosság előidézésére frissen lecsapott és lebegő állapotban levő báryumsulfátból (0·1 n. káliumsulfát és 0·1 n. báryumchloridnak elegye) adagolunk az ellenőrző próbákhoz néhány cseppet.

A legtöbb indikátorral történt meghatározásoknál 0·3—0·5 normál mennyiségben jelenlevő sók zavart nem okoznak, csak a methylibolya, mauvein, gentianaibolya és methylzöld olyan indikátorok, melyekkel dolgozva, már ilyen sókonczen-trációk mellett is hibás eredményekhez juthatunk. Ilyen esetekben mindig ellenőrző elektrometriás méréseket kell végeznünk és a kolorimetriás módszerrel talált adatokat azok alapján ki kell javítanunk.



12. rajz. Állvány kolorimetriás meghatározásokhoz.

Indikátorokul Sørensen a megjelölt hydrogénionkoncentrációk kitevők határai között a következő indikátorokat ajánlja:

1. methylibolya	p _H = 0·1—3·2
2. mauvein	„ = 0·1—2·9
3. benzol-azo-diphenylamin	„ = 1·2—2·1
4. p-benzolsulfonsav-azo-diphenylamin	„ = 1·4—2·6
5. m-benzolsulfonsav-azo-diphenylamin	„ = 1·2—2·3
6. benzol-azo-benzylanilin	„ = 2·3—3·3
7. p-benzolsulfonsav-azo-benzylanilin	„ = 1·9—3·3
8. p-benzolsulfonsav-azo-m-chlordiaethyl-anilin	„ = 2·6—4·0
9. benzol-azo-dimethylanilin	„ = 2·9—4·0
10. p-benzolsulfonsav-azo-dimethylanilin	„ = 3·1—4·4
11. benzol-azo-α-naphtylamin	„ = 3·7—5·0
12. p-benzolsulfonsav-azo-α-naphtylamin	„ = 3·5—5·7
13. p-nitrophenol	„ = 5·0—7·0
14. neutralvörös	„ = 6·8—8·0
15. rosolsav	„ = 6·9—8·0
16. p-benzolsulfonsav-azo-α-naphtol	„ = 7·6—8·9
17. phenolphtalein	„ = 8·3—10·0
18. thymolphtalein	„ = 9·3—10·5
19. p-nitrobenzol-azo-salicylsav	„ = 10·1—12·1
20. p-benzolsulfonsav-azo-resorcin	„ = 11·1—12·7

Ez indikátorok használatánál azonban szintén óvatosan kell eljárni és figyelemmel kell kísérni a következőket.

A methylibolya csoportjába tartozó indikátorok (1. és 2.) közömbös sókkal szemben érzékenyek, továbbá a szín az oldat állásakor gyengül, még pedig annál gyorsabban, mennél savanyúbb a közeg.

A bázisos indikátorokat (3., 6., 9., 11. és 14.) toluol és chloroform (melyeket éppen enzimoldatok fertőtelenítésére szoktak használni) oldja. A négy első indikátor az oldatokból hosszabb állás után kiválik.

Nagyobb mennyiségű proteinanyag jelenlétében a legtöbb indikátor felmondja a szolgálatot. Ilyen esetben csakis az 1., 2., 13., 16., 17., 18. számú indikátorok megbízhatók. A proteinek hidrolizistermékei nem okoznak a kolorimetriás módszernél olyan nagy zavart, néhány savanyú azófesték azonban itt is hibás eredményt adhat. Ilyenek a 4., 5., 7., 8. és 10. számú indikátor.

Különben, ha proteinanyagok vagy azok bomlástermékei csak csekély mennyiségben vannak jelen az oldatban, a savanyú azófestékeknek jobb hasznát vehetjük, mint a lúgosaknak, mert a savanyú indikátorokat se toluol, vagy chloroform, se pedig hosszabb állás nem változtatja.

Az optimális hidrogénionkoncentráció, ha nem is tág határokon belül, változik a hőmérséklet szerint, miért is az ionkoncentráció meghatározásánál ezeket a kísérleti körülményeket is meg kell adni.

Az enzimek adszorpciója.

Az adszorpciónak két fajtát kell megkülönböztetnünk, még pedig a mechanikai és az elektrochemiai adszorpciót. A mechanikai adszorpció akkor állhat elő, ha a folyadék felülete az adszorbeáló testhez képest nagy felületi feszültséget mutat és az oldott anyag adszorbeálása következtében ez a feszültség csökken. Az elektrochemiai adszorpció ellenben akkor szerepelhet, ha az adszorbeáló és az oldott anyag között nagy elektromos potenciálkülönbség van, mely az adszorpció megtörténte után megszűnik, vagy kisebbedik. Ha tehát valamely anyag elektrochemiai természetére akarunk következtetni, olyan adszorbeáló anyagokat kell választanunk, a melyeknél mechanikai adszorpció lehetőleg nincs, elektrochemiai tekintetben pedig mindig egyforma irányú töltéssel van ellátva.

Az adszorbeáló anyagok elektrochemiai jellemét ismét olyan oldott anyagok segítségével határozzuk meg, a melyeknek töltése minden esetben egyenlő irányú. Erre a célra nagyon jól használhatók szerves festékek; a bázisosak közül a fukszin, a methylibolya, methylénkék, a savanyúak közül eozin és pikrinsav. Michaelis¹ a szokásos adszor-

¹ Michaelis L., Biochemische Zeitschrift, 7, 488 (1907)

beáló anyagoknak viselkedését ezekkel a festékekkel szemben megvizsgálta és azt találta, hogy a kaolin, tekintet nélkül a közeg kémhatására, mindig csakis bázisos festékanyagokat adszorbeál, ezzel szemben az alumíniumoxid és a vashydroxid minden esetben csakis a savanyú festékeket tartja vissza az oldatból.

Ha tehát észrevesszük, hogy bizonyos oldott anyagokat a kaolin, illetőleg alumíniumoxid, vagy vashydroxid abszorbeál, abból azt is meg tudhatjuk, hogy az anyag bázisos-e, vagy savanyú. Ezt a megfontolást átvihetjük az enzimek adszorpciójára is, miből fontos következtetést vonthatunk le az enzimek jellemére.

Michaelis-nek erre vonatkozó vizsgálatait a következő táblázatban foglaljuk össze.

A táblázatban még a vérszénre és a talcumra vonatkozó oldatokat is közlöm. Ennek a két adszorbeáló anyagnak elektrochemiai jelleme nem határozott, mert bázisos és savanyú anyagokat is adszorbeálnak.

Adszorbeáló anyag	A közeg kémhatása	Növényi eredetű amiláz	Állati eredetű amiláz	Tripszin	Pepszin	Oltó	Invertáz
Kaolin	közömbös	00	++	++	++	++	00
	lúgos	00	++	+	—	—	00
	savanyú	++	++	++	++	++	00
Talcum	közömbös	00	++	++	++	++	++
	lúgos	00	++	+	—	—	00
	savanyú	00	++	++	++	++	++
Szén (vérből)	közömbös	++	++	++	++		++
	lúgos	00	++	++	—		++
	savanyú	++	++	++	++		++
Alumíniumoxid	közömbös	++	++	++	++		+
	lúgos	++		+	—		+
	savanyú	+		++	++		+
Vashydroxid	közömbös	++			++		++
	lúgos				—		
	savanyú				++		

A táblázatban használt jelek magyarázata: ++ tökéletes adszorpció; + nem tökéletes adszorpció; 00 az adszorbeáló anyag az enzimre teljesen hatástalan; — a vizsgálat nem vihető keresztül.

A felsorolt adszorbeáló anyagok közül a kaolin, talcum és a vérszén kellő tisztaságban kapható. A vashydroxidot kolloidális oldata alakjában (ferrum oxydatum dialysatum) használjuk. Megállapítjuk előzetes kísérlettel, mennyit keverjünk adott térfogatú enzimoldathoz, hogy a kiváló csapadék legnagyobb, de a szüredék még vastól mentes legyen. Az alumíniumoxidot alumíniumchloridoldatból ammoniával csapjuk ki, a csapadékot centrifugáljuk és addig mossuk, míg a mosóvíz lúgos kémhatását elvesztette. Ezt csak nagyon sokszor megismételt mosással

érjük el. A kísérletekből kitűnik, hogy az invertáz savtermészetű, míg a többi felsorolt enzim többé-kevésbé amphoter anyag.

Elméleti szempontból a tökéletes adszorpczió éppen annyit mond, mint a nemtökéletes, mert a tökéletes adszorpcziót kellő mennyiségű adszorbeáló anyag jelenlétében el lehet érni; lényegesek azonban azok az esetek, melyekben az adszorpczió teljes hiányát állapíthatjuk meg.

Az enzimek adszorpcziójának megfigyelésénél fontos, hogy nagyon híg enzimoldattal kísérletezzünk. Megesik ugyanis még könnyen adszorbeálódó enzimekkel is, hogy tömény oldatokban az enzimvesztéséget nem lehet kimutatni. Ennek oka legtöbbször az enzim mennyiségi meghatározásának tökéletlen volta. Ha erre a körülményre nem ügyelünk elegendően, akkor az enzim elektrochemiai jellemére nézve is helytelen fogalmat alkotunk magunknak. Michaelis maga is, a ki az adszorpczió analízist az enzimek tanulmányozásába bevezette, eleinte a pepszinnél azt találta, hogy kaolin nem adszorbeálja. A mikor azonban hígabb oldatokkal kísérletezett, kitűnt, hogy az abszorpczió ilyen oldatokban tökéletes, miáltal a pepszinnek, mint a többi eddig tanulmányozott állati eredetű enzimnek is amphoter jellemére lehet következtetni.

Az adszorpczió jelenségével szoros összefüggésben áll, hogy az enzimek porcellánszűrőn, vagy pergamenten, kollódiumhártyán keresztül hatolnak. A régebbi szerzők az ilyen kísérleteknél szintén elhanyagolták a közeg kémhatását, miért is nagyon eltérő és egymással ellentmondásba jutó eredményt értek el.

Arra, hogy az enzim szűrhetősége mennyire függ a környezet kémhatásától, jó példa az *Aspergillus niger* penészgombából kioldott invertáz, mely phenolphthaleinnel szemben közömbös oldatban Chamberland-szűrőn akadálytalanul áthatol, míg ha az oldat methyloorange-zsal szemben közömbös, a szüredék invertázt alig tartalmaz.¹ Ugyanezt a viselkedést mutatja a sertéskataláz és a mandulából előállított emu zin. A pepszin, mely methyloorange-zsal szemben közömbös oldatban nem szűrhető, 2‰ sósav, vagy közömbös sók jelenlétében a porcellánszűrőn könnyen áthatol. Az enzimek kioldását és szűrhetőségét általában növelhetjük csekély mennyiségű lúgnak jelenlétével, de ugyanezt az eredményt néha közömbös sókkal, vagy savakkal is elérhetjük.

Az enzimek szűrhetősége azonban nemcsak a környezet kémhatásától, hanem az enzimeket kísérő anyagok oldhatósági állapotától is függ. A mandulaemulzint pl. bármilyen kémhatású oldatban át lehet hajtani a porcellánszűrőn, ha a mandulatej kázeinjét előzőleg eltávolítjuk aképpen, hogy az oldatot methyloorangehoz képest ecetsavval közömbösítjük.

Hasonló esetekre számos tanulságos példát nyújt még az enzimek részletes ismertetése.

¹ Holderer, C. r. 149, 1153—1156, (1909). 150, 790—792, (1910).

Az enzimek elektromos átvitele.

Az emulziós kolloidok, akár csak vízben lebegő szilárd alkotórészek az elektromos áram hatására elektrochemiai jellemük szerint, egyik vagy másik elektród felé vándorolnak. A jelenséget elektromos *kataforézis*-nek vagy *átvitel*-nek nevezük. Minthogy az enzimek is kolloidok, az elektromos áram hatására beálló vándorlási irányuk elektrochemiai jellemükre enged következtetni. Az enzimek kataforézise épp úgy, mint a proteineké is, a közeg kémhatásától függ. Így a tripszin és a diasztáz a közeg lúgos, vagy savanyú kémhatása szerint egyszer az anód felé, másszor a katód felé vándorol.

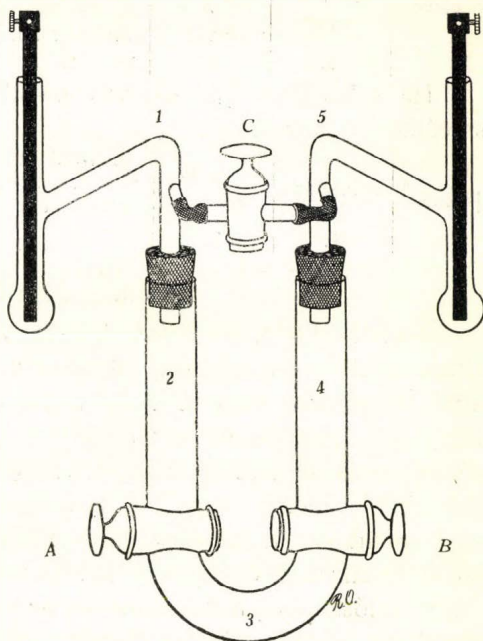
Michaelis, a ki sokat foglalkozott az enzimek elektromos átvitelének meghatározásával, a kísérlet kiviteléhez a mellékelt rajzban látható készüléket ajánlja.

A készüléket, ha közömbös oldatban akarunk dolgozni, következőképpen töltjük meg:

+ ezüst	konyhasó-oldat	víz	enzim-oldat	víz	cuprichlorid-oldat	réz —
		2.	3.	4.	5.	

A kísérletet úgy végezzük, hogy a 3-mal jelölt részbe öntjük az enzimoldatot, majd az *A* és *B* csapokat bezárjuk; most a 2. és 4. csövet színig töltjük desztillált vízzel, ráhelyezzük az 1. és 5. dugóval ellátott meghajlított csöveket, ezeket is színig töltjük desztillált vízzel, úgy hogy levegőbuborék közbe ne maradjon, majd szilárd cuprichloridot, illetőleg konyhasót szórunk a csőbe, úgy hogy annak legnagyobb része a kis tekékbe kerüljön. Elhelyezve most az elektródokat, bezárjuk a *C* csapot, kinyitjuk az *A* és *B* csapot és 8—24 óra hosszat 110 Voltos áramot bocsátunk a készüléken át. A kísérlet végén bezárjuk az *A* és *B* csapot, leemeljük az elektródedényeket és megvizsgáljuk a 2., illetőleg a 4. csövet, hogy van-e benne enzim.

Zemplén Géza: Az enzimek és gyakorlati alkalmazásuk.



13. rajz. Enzimek elektromos átvitelének meghatározására szolgáló készülék.

Sók jelenlétében, pl. káliumchlorid jelenlétében a következő összeállítást használjuk:

+ ezüst	kálium- chlorid- oldat	$\frac{1}{100}$ n. kálium- chlorid- oldat	enzimoldat $\frac{1}{100}$ n. kálium- chlorid tartalommal	$\frac{1}{100}$ n. kálium- chlorid- oldat	Cuprichlorid- oldat	réz —
	1.	2.	3.	4.	5.	

Ha a kísérletet pl. sósavas oldatban akarjuk végezni, akkor az összeállítás a következő:

+ ezüst	erős sósav	$\frac{1}{100}$ n. sósav	enzimoldat $\frac{1}{100}$ n. sósav tartalommal	$\frac{1}{100}$ n. sósav	Cuprichlorid- oldat	réz —
	1.	2.	3.	4.	5.	

Enzimes szintézisek.

Van't Hoff 1898-ban fejtette ki azt a nézetét, hogy enzimek szintéziseket is végezhetnek, illetőleg a szintézisek sebességét gyorsíthatják katalitikus módon. Még ugyanabban az évben ez a sejtlem kísérletileg igazolódott, a mennyiben Croft-Hill¹ azt találta, hogy 40⁰/o-os glükózoldatnak forgatótehetsége maltáz hatására 30⁰-on olyan értelemben változik, hogy az a maltóz forgatótehetségéhez közeledik. Ezzel együtt járt a folyadék redukálójának csökkenése, a mi szintén a maltóz keletkezésével együtt járna. Daczára annak, hogy Croft-Hill a czukrot valószínűleg tévesen tartotta maltóznak, mert később Emmerling vizsgálatai az izomaltóz keletkezése mellett szóltak, mégis Croft-Hill érdeme, hogy egy diszacharid enzimes szintézisét először észlelte. Később Fischer E. és Armstrong E. F.² kefirgumók vizes oldatával glükóz és galaktóz elegyből szintén szintézissel előállított diszacharidhoz jutottak, mely ismét nem volt a várt tejczukor, hanem az azzal izomer *izolaktóz*. Ezekután nem csodálkozhatunk azon az érdekes felfogáson, melyet E. F. Armstrong³ néhány évvel később az enzimes szintézisekre nézve kifejtett. Megértésére előre kell bocsátani, hogy a glükóz két sztereoizomer formában ismeretes. Alkoholból az úgynevezett α -alak kristályosodik ki, mely hosszabb ideig tartó, 105⁰-ra való melegítés után a β -alakba megy át. Ez a két alak forgatótehetségében is különbözik egymástól. Ha a glükózt sósavas alkoholban oldjuk, a két alaknak megfelelő α - és β -alkoholglükozid áll elő. Ezek közül az α -glükozidot, mint azt Fischer Emil vizsgálataiból tudjuk, a maltáz, a β -glükozidot pedig az emulzin hidrolizálja. Minthogy a maltóz és az izomaltóz a két enzimmel szemben úgy viselkedik, mint a két glükozid és minthogy tudjuk,

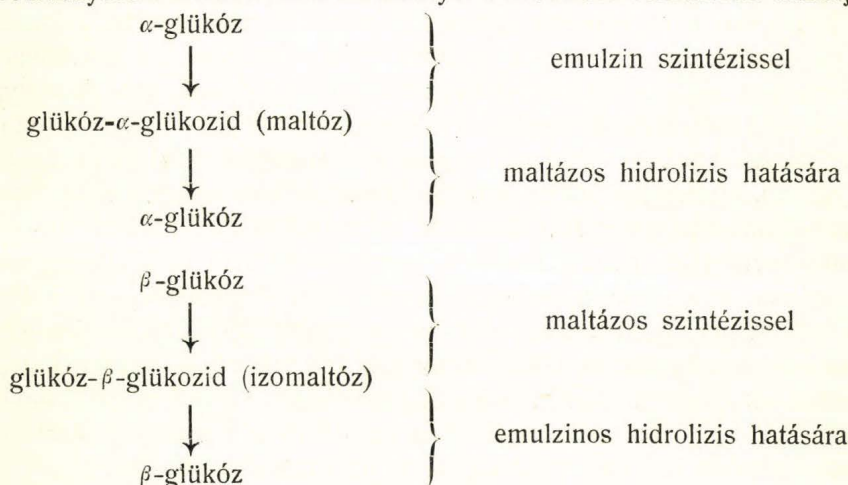
¹ Croft-Hill, Journal of the chemical Society, 73, 634. (1898).

² E. Fischer és E. F. Armstrong. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 35, 3151. (1902).

³ E. F. Armstrong, Proceed. of the Royal Soc. 76 (B) 592. (1905); Proceed. of the Chem. Soc. 19, 209. (1903). Journal chem. Soc. 83, 1305. (1903).

hogy a mostani felfogás szerint a diszakharidokban is glükózid-kötéseket tételezünk fel, nem vakmerő az a következtetés, hogy a maltózban: *glükóz- α -glükózid* és az izomaltózban *glükóz- β -glükózid*-dal állunk szemben.

Nézzük most miféle eredményt kapott Armstrong enzimes szintéziseinél. Mikor sósavat használt a glükózmolekuláknak össze-forrasztására, a sósavnak eltávolítása és a fölös mennyiségű glükóznak a *Saccharomyces intermedius* Hansen¹ élesztőgombával való erjesztése után maltóz és izomaltóz keverékét kapta. A tényt úgy bizonyította, hogy a kapott diszakharidmaradék maltáznak is és emulzinnak hatására is glükózt adott. A mikor azonban maltázzal hagyta a glükózoldatot 2—3 hónapig 25°-on állani, a diszakharidmaradék maltáz hatására nem hidrolizálódott, míg emulzinnal könnyen glükóz létesült. A maltáz hatására keletkezett diszakharid tehát izomaltóz volt; míg az emulzin maltózt eredményezett. Kísérleteinek eredményét a következő összeállítás mutatja:



Ezekből a kísérleti tényekből Armstrong azt következtette, hogy az enzimek mindig olyan anyagokat létesítenek, a melyeket nem hidrolizálhatnak. Bármennyire meggyőzően írja le szerző ezeket a kísérleteket és a belőlük levont következtetéseket, nézeteit végleges eredménynek még sem fogadhatjuk el, annál kevésbbé, mert felfogása az enzimekről, mint katalizátorokról, kialakult nézeteinkkel nem egyeztethető össze könnyen. Armstrong nézete ellen szólnak azok a szép glükozidszintézisek is, melyeket Bourquelot és tanítványai valósítottak meg.² Bourquelot rájött, hogy az emulzin alkohol jelenlétében is bontja a β -glükózidokat, a reakció azonban a hidrolízis bizonyos fokának elérése után megállapodik, jeléül annak, hogy a folyamat megfordítható. Ezek után

¹ Az élesztőgomba maltázt nem tartalmaz, miért is a maltázt nem erjeszti el.

² Zemplén Géza, Vegyészeti Lapok 8, 132 (1913).

megkísérlette az alkoholt és a glükózt emulzin segítségével körülbelül 15⁰/₀-nyi víz jelenlétében összekapcsolni, még pedig a legfényesebb sikerrel, a mennyiben a β -glükozid ilyen körülmények között körülbelül 70⁰/₀-nyi termeléssel állítható elő. Alig néhány hónap múlva Bourquelot-ék máris egész sorozatát állították elő a β -alkylglükozidoknak emulzin segítségével. Hasonló módon az élesztőben jelenlevő maltáz segítségével az α -glükozidokat is sikerült szintézis útján előállítani. Mint-hogy a maltáz nem nagyon tűri az alkoholt, a reakciókeverékben leg-följebb 15—20⁰/₀ alkohol lehet. Ezek a Bourquelot-féle szintézisek nézetem szerint az enzimek tanulmányozásának legszebb eredményei közé tartoznak, melyek a glükozidok ipari előállításának szolgálatában rövid időn belül nagy sikereket ígérnek. Bourquelot kísérletei minden kétséget kizárólag azt mutatják, hogy ugyanaz az enzim végzi a szintézist is meg a hidrolizist is az α - és a β -glükozidok csoportjában.

Ezenkívül nagyon sok enzimes szintézisről számoltak be a különböző kutatók. Az eredmények azonban nem egyforma értékűek. Biztos az enzimes szintézis létrejötte a lipáz hatására, mikor vajsavból és aethyl-alkoholból aethylbutyrát, továbbá a mikor valódi zsír keletkezik glicerinnél meg zsírsavakból. Mandulasavnitrilglükozidból és glükózból enzimes úton anygdalin, benzaldelydből és hydrogényanidból emulzinkészítmény hatására benzaldehydcyanhydrin keletkezik. Az utóbbi szintézist Rosenthaler¹ tanulmányozta és nézete szerint a szintéziseket nem az enzim, hanem a mellette előforduló különleges anyag végzi. Tulajdonképpen ezáltal az enzimekről szóló úgyis bonyolult nézeteket Rosenthaler még kevésbé áttekinthetővé tette. Minek egy új föltevéses anyaggal gyarapítani az enzimek számát, mikor a jelenségek a nélkül is megmagyarázhatók? Talán enzimes szintézis az is, mikor a keményítő oldatából malátavonadék hatására visszaalakul az oldhatatlan keményítő.

Vannak azután meglehetősen kétséges enzimes szintézisek. Ilyen a Danilenski-féle *plasztein*-keletkezés, melylyel főleg orosz kutatók foglalkoztak. A jelenség akkor áll elő, ha Witte-féle *pepton*-oldatok oltó-enzimmel érintkeznek. Ilyenkor sajátos proteinhez hasonló csapadékok állnak elő, melyek proteinreakciókat mutatnak, de nitrogéntartalmuk jóval alacsonyabb, mint a proteineké. Albumózok oldatában is észlelhető plasztein keletkezés. A különleges részben még visszatérünk ezekre a részletekre.

Még különösebb a Taylor²-féle tripszines szintézis. Ő szalmin-sulfátot tripszinnel hidrolizált; a reakcióelegyből a Fischer-féle étermódszer segítségével elkülönítette az aminosavakat és ezeket a *Schizothoerus Nuttallii* tengeri csiga májának glicerines oldatával hagyta 4 hónapig

¹ Rosenthaler, Biochemische Zeitschrift, 14, 238. (1908); 17, 257. (1909); 19, 186. (1909).

² Taylor A. E. Journal of biolog. Chem. 5, 381—387. (1909).

állni. Ez alatt állítólag enzimes úton az aminosavakból visszaalakult a protein.

Az ilyen bonyolult reakcióelemben azonban nem áttekinthetők a viszonyok, miért is czélszerűbb volna néhány aminosavval, vagy peptiddel, ismert körülmények között kísérleteket végezni és megfigyelni, keletkeznek-e magasabbrendű molekulahalmazok.

Reám az ilyen Taylor-féle kísérlet olyan hatást gyakorol, mint mikor valaki a nélkül, hogy a fémek és savmaradékok kimutatására és meghatározására szolgáló módszereket ismerné, hozzáfogna egy közet elemzéséhez. Hiszen csapadékokat kapna az illető is, csakhogy fogalma sem volna róla, hogy mi van a keze között.

Az enzimek elnevezése és beosztása.

Az enzimek okszerű elnevezése ama különleges reakció alapján történik, a melyet létesítenek. Minthogy a legtöbb enzim hidrolizist, oxidációt, vagy pedig erjedést idéz elő, legczélszerűbb, ha ezt a három reakciófajtát választjuk a beosztás alapjául. E szerint megkülönböztünk *hidrolites enzimeket* vagy *hidrolázokat*, *oxidáló enzimeket*, vagy *oxidázokat* és *erjesztő enzimeket*. A megalvasztó enzimek részére: a chymosinra és a thrombázra ezen beosztás alapján ugyan nem jut hely, ezt a két enzimet tehát külön fejezetben fogom tárgyalni. Hasonlóképpen czélszerű a katalázt is külön tárgyalni, mert máshogy nem osztható be. Az enzimek megjelölésénél az az végzetet függesztik az alapanyag után, melyet az enzim átalakít.

I. Legterjedelmesebb a *hidrolázok* csoportja. A benne szereplő eszméket a szerint különböztetjük meg, hogy a hidrolizist milyen alapanyagon végzik. E szerint vannak:

Étert bontó enzimek. Ide tartoznak a lipáz és a többi étert bontó enzim.

Szénhidrátokat bontó enzimek. Ide tartozik az invertáz, maltáz, lak-táz, trehaláz, melibiáz, gentiobiáz, raffináz, amiláz, celluláz, inulináz stb.

Glükózidokat bontó enzimek. Amigdaláz (emulszin), mirozináz stb.

Proteolites enzimek. Pepszin, tripszin, erepszin, peptidáz stb.

Egyszerű amidázok. Argináz, kreatináz, adenáz, guanáz, ureáz stb.

II. A második csoportban tárgyalom a megalvasztó enzimeket: *koagulázokat*. Chimáz, thrombáz.

III. *Oxidázok.* Ide tartoznak az *alkoholoxidázok*, az *aldehidázok*,

a *purinoxidázok*: xanthinoxidáz, urikáz, továbbá

a *phenolázok*, tirozinázok.

IV. *kataláz.*

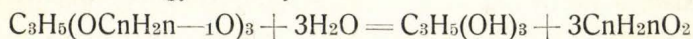
V. *Erjesztő enzimek*, vagy *zimázok*. Ide tartozik a tejsavas és alkoholos erjedés enzimje.

I. Hidrolizáló enzimek (hidrolázok).

Étert bontó enzimek.

Lipáz (*Pialyn*, *Steapsin*).

Működése a zsíroknak és egyéb glicerintereknek hidrolizisát eredményezi, miközben glicerint és zsírsavak keletkeznek. Az enzimhatást a következő általános egyenlet fejezi ki:



A növény- és az állatvilágban egyaránt nagyon elterjedt és fontos szerepet visz. Számos baktérium: *Bacillus pyocyaneus*, *prodigiosus*, typhusbacillus, cholera vibrio stb. alkalmas a zsírok enzim bontására. Az élesztőgombában Delbrück találta meg.¹ Szerinte az élesztőlipáz bontaná el az élesztőben előforduló zsírt s így létesülnek az alkoholos erjedés alkalmával a glicerint, melynek keletkezése e szerint nem függ össze az erjedéssel. Ez a felfogás nagyon valószínű, tekintve, hogy az alkoholos erjedés közben megjelenő magasabbrendű alkoholok és a borostyánkősav keletkezéséről is tudjuk újabb megbízható vizsgálatok alapján, hogy nem csukorból keletkeznek. Számos penészgombában: *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*, *Mucor* fajok, továbbá magasabbrendű gombában: *Cantharellus cibarius*, *Boletus elegans*, *Hydnum repandum*, *Clavaria flava* *Lycoperdon gemmatum* van lipáz. Sok zsírtartalmú mag (ricinus, mák, kender, len, tengeri, tök, kokusz, gesztenye stb.) csirázásakor, sőt talán még a magvak nyugalmi állapotában is van jelen zsírtbontó enzim, utóbbi esetben mind *zimogén*.

A földi giliszta bélcsatornájának kivonatában, a csiga májában, számos *Crustacea* petéjében, a folyami rák emésztő nedvében, pókok májában, százlábúak és sok rovar bélcsatornájában, halak belének nyálkahártyájában és haepatopankreaszában, a tyúktojás székében találtak zsírtbontó enzimeket. A magasabbrendű állatok legkülönbözőbb szervei lipázhatásúak. Emlősök gyomor- és bélnedvében, továbbá hasnyálmirigyváladékában is van lipáz.

Jelenléte a táplálékkal felvett zsír megemésztésénél és felszívódásánál legnagyobb fontosságú. Connstein és Pflüger tüzetes vizsgálataiból tudjuk, hogy a zsírok a bélcsatornában nagymértékű hidrolizist szenvednek, mely a lipázok jelenlétének tulajdonítható. A máj, a lép, a here, a vese, a tüdő, a pajzsmirigy, az izmok vonadéka, továbbá a nyirokmirigyek tartalma, mind bontja a zsírt. Kóros esetekben gyakran jelentkeznek lipázok a vizeletben, különösen ha a beteg albuminuriában (fehérje-vizeletben) szenved. Ha a kutya hasnyálmirigyéből kivezető csatorna nyílását mesterségesen elzárják, szintén lipáztartalmúvá lesz a vizelete.

¹ Delbrück M.: Wochenschrift f. Brauerei, 20. 7. füzet (1903).

A lipázt tiszta állapotban nem ismerjük. Hatásos készítményeket lehet előállítani, ha a növényi vagy állati részeket 9 súlyrész glicerinnél és 1 súlyrész 1% szódaoldatból készült eleggyel oldjuk ki. Jó szolgálatokat tesz a tiszta glicerinnel való kioldás is. Loevenhart¹ eljárása szerint a lipáztartalmú vizes oldatot uranacetat- és nátriumphosphatoldattal csapjuk ki. A csapadékokat azután Soxhlet-készülékben éterrel kioldjuk s ezután kiszárítjuk.

A ricinuslipázkészítmény előállítását a lipáz technikai alkalmazásánál írom le.

Zsírtbontó enzimek kimutatására legegyszerűbb a Heidenhain-féle próba, mely a keletkező szabad zsírsavaknak savanyú kémhatásán alapszik. Felforralt tejnek egy-egy próbáját a vizsgálati anyag oldatával keverjük, majd lakmuszoldatot cseppentve a próbába, annyi szódaoldatot elegyítünk hozzá, hogy az gyengén kékszínű legyen. Az egyik próbát most felforraltva, az enzimhatást felfüggesztjük s mind a kettőt, toluol jelenlétében, 40°-ú thermostatban hagyjuk több óra hosszat állni. A lipáz jelenlétét az oldat megvörösdése jelzi, míg az ellenőrző próba kékszínű marad.

A lipáz mennyiségének meghatározása céljából meghatározzuk azt a savmennyiséget, melyet adott mennyiségű lipáz bizonyos idő leteltével ismert hőmérsékleten a zsírból felszabadít.

Használhatunk bármely zsírt, mely állandó összetételű sokáig megtartja.

A módszer végrehajtását legcélszerűbb adott példával megvilágítani. Használjunk alapanyagképpen savtólmentes pamutolajat, és vizsgáljuk meg, hogy egy ricinusmag készítményből 0.5 g.-nyi milyen hidrolizist idéz elő benne.

E célból 5 g. pamutolajat 2 cm. $\frac{1}{10}$ normál eczetsavval emulzióvá rázunk. Az eczetsav jelenléte a hidrolizisre nagyon előnyös. Ekkor belekeverve 0.5 g. ricinuszimkésítményt, a próbát 24 óráig, 20°-on hagyjuk állni. Most a tömeget 1 súlyrész éter, meg 1 súlyrész alkohol elegyében oldjuk és phenolphthalein jelenlétében alkoholos káliumhydroxiddal megtitráljuk a jelenlévő sav mennyiségét. Elfogyott $14.8 \text{ cm}^3 \frac{1}{10}$ normál alkoholos káliumhydroxid. Ebből levonunk 2 cm^3 -t, mert annyi eczetsavat öntöttünk előzőleg a próbához. 5 g. pamutolajból tehát $12.8 \text{ cm}^3 \frac{1}{10}$ normál lúggal közömbösített savmennyiség váltott szabaddá, vagyis a savmennyiség $12.8 \times 56 \text{ mg.} = 713 \text{ mg.}$ káliumhydroxiddal egyenértékű. 1 g. pamutolajra tehát $713 : 5 = 143 \text{ mg.}$ káliumhydroxid esik. Az utóbbi szám, mely az 1 g.-ra eső szabad zsírsavak mennyiségét káliumhydroxid mg.-ban fejezi ki, a *savszám*.

Tudnunk kell azonban még azt is, hogy mennyi zsírsav tehető egyáltalában szabaddá 1 g. pamutolajból. Ennek meghatározására 1—15 g.

¹ A. S. Loevenhart, Journal of biolog. Chemistry 2. 427—460 (1907).

zsírt aethylalkoholos, még jobban propylalkoholos¹ $\frac{1}{2} \times$ normál kálium-hydroxiddal vízsűrőn elszappanosítunk, majd pedig az el nem fogyott káliumhydroxidot $\frac{1}{2} \times$ normál sósavval visszatitrljuk. Ebből megtudjuk, hogy 1 g. pamutolaj elszappanosításához hány mg. káliumhydroxid szükséges, vagyis hogy a pamutolaj *elszappanosítási száma* mennyi.

Tegyük fel, hogy elszappanosítási számképpen 189-et kaptunk. A rendelkezésünkre álló adatok alapján most már könnyen kiszámíthatjuk, hogy a pamutolaj étheralakban kötött zsírsavainak hány százaléka alakult át szabad zsírsavvá.

$$\frac{189 - 143}{189} = \frac{46}{189} \times 100 = 2.43\% \text{-a van közömbös zsír alakjában}$$

lekötve és $100 - 2.43 = 75.7\%$ a szabad zsírsav mennyisége. A 0.5 g.-nyi riczinusmagkészítmény tehát 24 óra alatt 20°-on a pamutolaj kötött zsírsavának 75.7%-át szappanosította el.

Az enzimek tanulmányozásában alapanyagul gyakran használják a tojássárgájából készült emulziót és a tejet. A folyadékokat a vizsgálandó enzimmel hagyjuk állni gyakori felrázás közben és végül a reakcióelegyet kioldjuk alkoholtartalmú (100 cm³ étherre 1—2 cm³ alkohol) étherrel. Ilyenkor a rétegek könnyebben válnak el egymástól, mintha alkohol nincs jelen. Az étheres oldatban vannak a zsírsavak és a zsírok, melyeknek mennyiségét az éther elűzése, vagy egyszerűen alkohollal való hígítása után, az előbb leírt módon könnyen meghatározhatunk. Az emulzió külön próbájában meghatározzuk a jelenlevő zsírmennyiséget s így minden adattal rendelkezünk, mely a zsírból felszabadult zsírsavszázalék kiszámítására szükséges.

A lipázra jellemző, hogy vízben teljesen oldhatatlan. Vizes glicerinben és zsírt tartalmazó étherben szuszpenziókat alkot, melyeket ha többször papiroson keresztülsűrünk, a lipázt a papiros részben visszatartja. Collodium a hasnyálmirigylipázt abszorbeálja. Juh bélfalán végzett dialízis a lipáz hatását rendkívül csökkenti.

A lipázok eredetük szerint nagyon különböznek egymástól sajátágaikban, miből arra lehet következtetni, hogy többféle különleges működésű lipáz van, melyeket egyelőre legfeljebb tanulási célokból kell összefoglalnunk. A gyomor- és bélnedv lipáza csak zsíremulziókat bont, még pedig annál könnyebben, mennél finomabb az emulzio. A hasnyálmirigy zsírt bontó enzime a közömbös zsírokon kívül aethylbutyratot, trioleint, diacetint, triacetint, benzoesavglycerinéthert, phenylsuccinatot, salolt és a kétfázisos savak közömbös éthereit is hidrolizálja. Mennél nagyobb az éther molekulásúlya, annál könnyebben hat rá a lipáz. A növényi eredetű lipázok működési köre ismét más, a mennyiben a phytolipázok lecithineket és zsírsavéthereket könnyen bontanak, phenoléthereket azonban alig.

¹ Winkler Lajos, Zeitschrift f. angewandte Chemie, 24. 636—638 (1911).

A hasnyálmirigy váladékában a lipáz valószínűleg zimogén képében van jelen, mely lassan magától is hatásos enzimmé alakul át. Feltűnően gyorsítja ezt az átalakulást az epe, melyben főszerep a cholsavnak jut. A bélnedv lipázát is az epe hatásosabbá teszi, de nem oly feltűnően, mint a hasnyálmirigy zsírtbontó enzimjét; a gyomor lipázának működését az epe meg éppen megakasztja.

A hasnyálmirigy lipázza közömbös, gyengén savanyú és gyengén lúgos közegben működik; hatásának optimuma $1/150$ normál nátrium-hydroxid koncentrációnál van. Ka, Na, Mg, Mn és Ba sók nyomai elősegítik, a sók nagyobb mennyiségben alkalmazva, csökkentik a hidrolizis sebességét. Savak csekély nyomának jelenléte kedvező, nátriumfluorid, ózon, káliumpermanganát, alkohol, chloroform, szublimát és nitrátok károsak. A hőmérséklet hatása a reakcióra szembeötlő: 56° -on körülbelül nincs hatás, 40° -on optimális, 0° -on pedig még számbavehető. Ha a lipázt epesavas sókkal előbb hatásossá tettük, az enzimhatásfelső határa tetemesen lejjebb száll.

A lipáz hatására keletkező zsírsavak, vagy azok nátriumsói megakadályozzák a hidrolizis gyors lefolyását, a glycerin jelenléte ellenben előnyös, különösen akkor, ha a szétbontandó zsír nem emulzió alakban van jelen. A kedvező hatás a glycerin viszkozitásában keresendő, melynek következtében a reakciótümeg egyenletesebb eloszlása könnyebben létrejöhet s ez által az egymásra ható anyagok bensőbb érintkezésbe juthatnak.

Lecithin nem növeli a hasnyálmirigy váladékának lipolizises hatását, miért is az epe reakciót gyorsító hatása csakis az epesók jelenlétének tudható be. Utóbbiak bármilyen közegben élénkítik az enzimes zsírhidrolizist, valószínűleg úgy, hogy magára az enzimre hatnak. Ha a hasnyálmirigy váladékát enterokináz hozzátevése útján aktiváljuk, a lipolizis gyorsan csökken a keletkezett *tripszin* hatására. Ha azonban megalkasztott protein van jelen a reakcióelegyben, a tripszin azt veszi munkába s a lipolizis zavartalanul tovább folyhat.¹

A glycerinéthereknek lipáz hatására végbemenő hidrolizise megfordítható folyamat lévén, alkalmas körülmények között az éther vissza is alakul alkotóelemeiből. A hasnyálmirigylipáz methylalkohol és vajsavból methylbutyratot, glycerin és isóvajsavból glycerinisobutyrtot, a megfelelő savakból és alkoholokból monoleint, illetve trioleint, továbbá amyloleatot és amylstearatot létesít. A sertés, juh és ló belében előforduló, zsírtbontó enzim hatására a glycerin és olajsav éthert alkotnak. A szintézist epesavas sók elősegítik.

A ricinusmaglipáznak szintézisnél nyilvánuló hatásait is sikerült legújabb időben bebizonyítani.² A kísérletek egyrészt azt mutatták, hogy a

¹ Terroine E. F.: Biochemische Zeitschrift, 23, 404—462. (1910).

² Welter A.: Zeitschrift für angew. Chemie, 24. 385—387. (1911).

Krausz M.: " " " " 24. 829—831. (1911).

zsírok hidrolizisénél a jelenlevő vízmennyiség változásával a keletkezett zsírsavak mennyisége is változik, mert az egyensúlyi helyzet más és más lesz, másrészt tiszta zsírsav és glicerinnél az enzim hatására 35%-nyi zsírkeletkezést is lehetett kimutatni, ha a víz jelenlétét kizárták. K r a u s z M. azt is megfigyelte, hogy az egyik reakcióterméknek, a glicerinnak, eltávolítása után a közegből, a reakció, vagyis a zsírsavkeletkezés teljessé válik.

A lipáz zsírtbontó hatása arányos az idővel, de folyton lassúbbá válik. Kicsiny zsírmennyiségnél a hidrolízis a zsír mennyiségével arányos, nagyobb tömegeknél aránylag kisebb lesz. A gyomorlipáz hatása a Shütz-Borissow-féle törvény követelményeit kielégíti, a mennyiben a reakció sebessége az enzim koncentrációjának négyzetgyökével arányos. Magasabb enzimkoncentrációknál a törvényszerűség már nem válik be. Miként a pepszinnél, éppen úgy a lipáznál is érvényes a

$$p = k \sqrt{ft}$$

összefüggés, hol p a hidrolizistermékeket, f az enzimmennyiséget, t az időt, k pedig állandót jelent.

A hasnyálmirigy váladékának zsírtbontó hatását Eberle (1837) figyelte meg először. Később Claude Bernard foglalkozott tüzetesebben a lipázzal. A gyomor zsírtbontó enzimével legelőször Volhard¹ (1901) végzett kifogástalan kísérleteket.

Zsírtbontó enzimek alkalmazása a gyakorlatban.²

Pelouze, Green és Siegmund, a kik olajtartalmú magvaknak vízzel való eldörzsölésekor a növényi lipázok jelenlétét felismerték, csak csekély mértékű zsírsav keletkezését észlelték. A zsírtbontó enzimek alkalmazása az iparban csak akkor vált lehetővé, mikor Connstein, Hoyer és Wartenberg³ beható vizsgálataikkal kimutatták, hogy nagyobb szabású hidrolízis végbemenésére legfontosabb kellék bizonyos mennyiségű szerves-, vagy ásványsavnak jelenléte. A nagyon olcsó ricinusmagokat használva fel enzimtartalmuknál fogva zsírbontásra, víz és sav jelenlétében majdnem tökéletes hidrolíziseket értek el, mint azt a következő táblázatok bizonyítják:

¹ Volhard.: Zeitschrift f. klinische Medizin, 42. 418; 43, 397. (1901).

² J. Camo: Bulletin des Sciences Pharmacol, 16. 274—286. (1909). D. R. P. 145 413., angol szab. 22 111. (1902), francz. szab. 335 902. Follin: Chem. Revue Fett-u. Harz-Ind. 48., 69., 118. (1904); 13. 130—133. (1906). Urbain: Les corps gras 32, 291—293. (1906).

³ W. Connstein, E. Hoyer és H. Wartenberg.: Berichte, 35. 3988—4006 (1902). E. Hoyer: Berichte, 37. 1436—1447 (1904).

A zsír neme	A kísérletnél alkalmazott zsír-mennyiség g.-okban	Alkalmazott riczinusmag		A hidrolizisnél szabaddá váló zsírsavak mennyisége %/o-ban	Az enzimes hidrolizis tartama	Hőmérséklet	Az enzim-hatás gyorsítása czéljából hozzáadott ¹ / ₁₀ n. kénsav g.-ban
		olaj-tartalmú g.	olaj-mentes g.				
Faggyú	6·5	5	—	72	19	35	4
Csontolaj	6·5	5	—	81	19	35	4
Pálmaolaj	6·5	5	—	87	19	35	4
Repczeolaj	6·5	5	—	84	19	35	4
Pálmamagolaj	16·5	5	—	76·6	20		8
Arachisolaj	25	—	1·3	100	96		5
Lenolaj	50	—	5	83	24		10
Olaj olajbogyóból	50	—	5	86	24		10
Szézámolaj	50	—	5	85	24		10
Mandulaolaj	50	—	5	90	24		10
Kakaovaj	50	—	5	92	24		10
Pamutmagolaj	75	—	1·5	82	44		15
Pamutmagolaj	100	—	5	87	44		10
Pamutmagolaj	75	—	7·5	79	24		15

Legújabbán Krausz¹ végzett riczinusmag enzimével hidroliziseket, melyekről a következő összeállítás számol be: A kísérletekhez mindig 50 g. zsírt, illetőleg olajat, 20 cm³ ¹/₁₀ normál eczetsavat és 5 g. zsírtalanított riczinusmagport használt.

A zsír neme		A hidrolizis eredménye					
		1 1/2 óra mulva	4 óra mulva	8 óra mulva	24 óra mulva	48 óra mulva	80 óra mulva
Olaj, olajbogyóból	elszappanosítási sz.	187·4	188·8	193·7	194	—	—
	savszám	86·8	133·3	151·4	182·5	—	—
	szabad sav %/o-a	46·7	70·7	78·2	94·1	—	—
Palmin	elszappanosítási sz.	253·1	255	256·4	260·1	—	—
	savszám	73·8	106·4	183·5	217·2	—	—
	szabad sav %/o-a	29·2	41·8	71·6	83·6	—	—
Marhafaggyú	elszappanosítási sz.	190·3	192·6	193·2	194·1	195·6	—
	savszám	36·4	73	100	130·2	156·6	—
	szabad sav %/o-a	19·2	38	51·8	67·1	80·1	—
Vaj	elszappanosítási sz.	—	—	—	226	—	228
	savszám	—	—	—	99	—	200
	szabad sav %/o-a	—	—	—	43·7	—	87

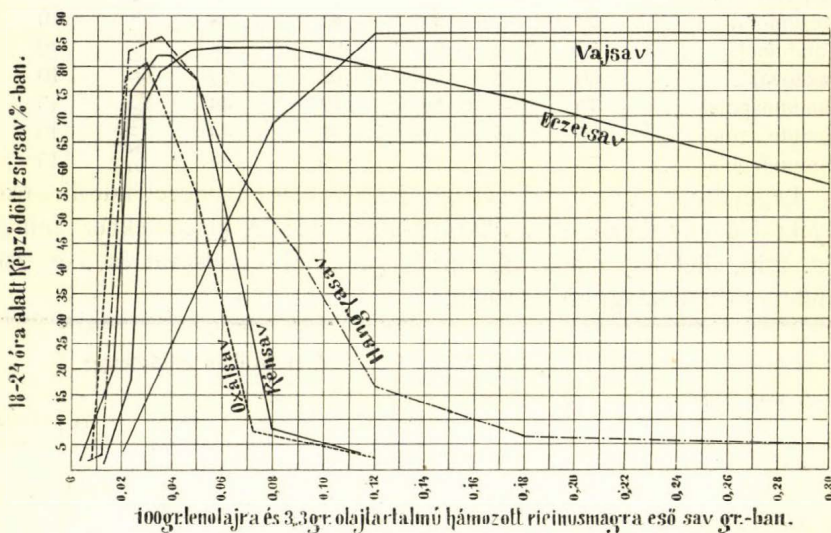
Aviaszfélék hidrolizise riczinusenzim hatására rendkívül lassan folyik le.

Hoyer E. megállapította pontosan különféle savak változó mennyiségének hatását a lenolaj hidrolizisére. Az eredményeket a 60. oldalon levő diagramm mutatja.

¹ Moritz Krausz: Beiträge zur fermentativen Fettspaltung. Doktori értekezés. Hannover, 1911.

Itt az ordinátán a keletkezett zsírsav százalékok, az abszcisszára pedig az az abszolút savmennyiség van felrakva g.-okban, mely szükséges, hogy 3:3 g. hámozott olajtartalmú riczinusmag 100 g. lenolajat enzimesen bontson.

Ezek a tanulmányok annyira serkentették az enzimek alkalmazását a zsíriparban, hogy a legutolsó évi statisztikai adatok alapján 30.000.000 kg. zsírt és olajat bontottak szét ezen az úton zsírsavra és glicerinnre. Az enzimhidrolizist úgy végzik, hogy a zsírt, illetve az olajat, ha közönséges hőmérsékleten nem volna folyékony, néhány fokkal olvadáspontja fölé melegítik, súlyának körülbelül 30—40%-nyi víz és 5% hámozott és jól eldörzsölt riczinusmaggal, továbbá 0.06%-nyi ecetsavval lehetőleg egyenletes tömeggé keverik az által, hogy levegőt fújnak rajta keresztül.



14. rajz. Lipázos hidrolízis diagramja.

2—3 nap múlva, midőn a zsírnak körülbelül 90%-a elbomlott, felmelegítik a reakciókeveréket, körülbelül 0.25%-nyi 60° Bé sűrűségű kénsavval elegyítik. Ilyenkor 3 réteg keletkezik: legalul van a glicerinn, középen vizes glicerinn, magrészek és az olaj emulziója, legfölül pedig az átlátszó zsírsavréteg.

Connstein és Hoyer vizsgálatai alapján a zsírbontó enzimkészítmény hatásosságát is sikerült növelni a következő eljárás szerint. A hámozott riczinusmagokat vízzel keverve, malomban megőrlik s a tömeget magas forgási számú centrifugában elkülönítik a magnak hatástalan részeitől, melyek a centrifuga fenekén maradnak vissza. A lefolyó emulzióban riczinusolaj van oldhatlan proteinnel keverve, melyek között a zsírbontó enzim is jelen van. A tömeget most 24°-on erjedni hagyják, melynek befejezésével az enzim hatásban erősen meggyarapodott és sűrű tejfelszerű tömeg úszik a savanyú oldat tetején. Benne rendszeren 38%

riczinusolajsav, 4% protein, illetőleg szilárd anyag és 58% víz van. Az erjedés következtében tartalmaz annyi savat is (túlnyomó részben ecet- és vajsavat), hogy sav hozzáadás nélkül is végzi a zsírok hidrolizisét.

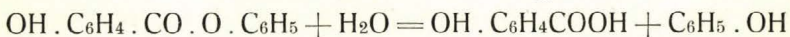
A 35–40%-nyi víz jelenléte a zsírbontásnál nagyon fontos, mert kevesebb víz alkalmazása mellett, a két egymással ellenkező irányba lefolyó reakció egyensúlyi helyzete sokkal csekélyebb mennyiségű szabad zsírsav keletkezése után áll be.¹

A zsírok enzimes bontása, nem tekintve a csekély költséget, mibe az enzim kerül, azért nagyon kedvező, mert különösebb berendezést alig igényel, bármilyen katlanban végezhető, továbbá a termékek tisztaság dolgában a magas hőmérsékleten előállítottakat felülmulják.

A hasnyálmirigyből előállított lipázkészítményekkel is próbáltak már nagyban zsírhidroliziseket végezni. Azonban technikailag jól értékesíthető olyan eredményt, mely a riczinusenzimmal versenyezhetne, még nem sikerült elérni.

Saloláz (Amylsalicyláz).

A salólt, vagyis a salicylsavas phenyléthert hidrolizálja salicylsav és phenol szabaddá válása közben, a következő egyenlet értelmében.



Továbbá a salicylsavas amyléthert is elbontja.

Az enzim előfordul a kutya- és számartejben, továbbá a nők tejében. Ha kecskét malátával táplálunk, tejében nemsokára megjelenik a saloláz. Az ember és a marha hasnyálmirigye, továbbá az epéje, azonkívül számos szerv tartalmazza az enzimet.

Előállítására legalkalmasabb a marha májának kisajtolt leve, melyből a proteinek fölöslegét uranacetátoldattal csapjuk ki. A kisajtolt lé helyett a 0.9%-os konyhasóoldattal, toluol jelenlétében készült májvagdalék-kivonatát is használhatjuk. Ilyenkor czélszerű a folyadékot dialízis útján tisztítani. Túl soká azonban a dialízis ne tartson, mert különben az enzimek készítmény hatástalanná válik, a mennyiben belőle egy diffúzióra alkalmas koenzim kioldódik. A hatástalanná vált enzimek oldatát könnyen újra működésre alkalmassá tehetjük, ha májvagdalék főzetével elegyítjük, mert ilyenkor az elvesztett koenzimet pótoljuk. A saloláz koenzimje, mely alkoholban oldódik, éterben nem, valószínűleg epesavas sók keverékéből áll.

A saloláz kimutatására és mennyiségi meghatározására legkényelmesebb a salicylsavas amyléther bomlását figyelemmel kísérni és a szabaddá váló salicylsavat megtitrálni.

Hatását a közeg gyenge lúgossága elősegíti; savak működését gyengítik. A hőmérsékleti optimum 20 és 37° között van.

¹ A. Welter: Zeitschr. f. angew. Chem. 24. 385–387. (1911.)

Monobutirínáz.

A monobutirint, továbbá más glicerinéthert hidrolizál, közömbös zsírok bontására nem való.

Előfordul csaknem valamennyi gerinces állat vérsavójában, a tejben, a limfában, a májban, epében, vesében stb.

Kimutatására az éther hidrolizise folytán felszabaduló savak jelenlétének megállapítása, mennyiségi meghatározására pedig a savak meg-titrálása szolgál.

A glicerinétheren kívül más alkoholnak éthereit is bontja, még pedig annál könnyebben, mennél alacsonyabb az éther molekulasúlya. Legjobban működik közömbös oldatban és 42—50⁰-nyi hőmérsékleten. Gyengén savanyú oldatban vajsavból és glicerinnél monobutirint létesít.

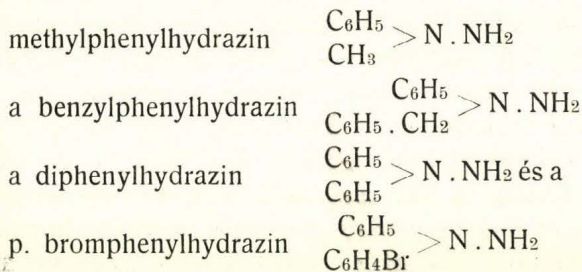
Szénhydrátokat bontó enzimek (Carbohydrázok).

Az ebbe a csoportba tartozó enzimek beosztása a többi csoportokéhoz képest aránylag jó. Ez úgy magyarázható, hogy az alapanyagoknak, vagyis a szénhydrát-ágoknak beosztása is sikerültebb, mint például a proteineké. A jelenleg uralkodó felfogás szerint minden polysaccharid enzim hidrolizálásánál külön enzimet tételezünk fel, bár nem lehetetlen, hogy ugyanaz az enzim többféle alapanyag hidrolizálását is előidézi. Az utóbbi nézetnek egy ideig különösen Fischer Emil volt a híve. Felfogása akkor alakult ki, mikor az α - és β -glükózidok emulzines hidrolizálását tanulmányozta. Észrevette, hogy a β -glükózidokat az emulzin hidrolizálja, míg az α -glükózidokra az enzim hatástalan. Minthogy pedig a di- és trisaccharidok között is vannak cukrok, melyeket az emulzin bont (ilyenek az izomáltóz, tejcukor, cellobióz, gentiobióz, raffinóz), nem volt merész az a következtetés, hogy ezek a cukrok is a β térbeli elhelyeződésű típus szerint vannak felépítve. Lényeges feltétel a következtetésnél azonban az, hogy ugyanaz az enzim végzi a glükózidok és a szóban forgó polysaccharidok hidrolizálását is. Erre azonban nincs semmi bizonyíték. Tekintve, hogy Bertrand-nak sikerült az emulzinak nevezett készítményben levő különböző enzimeket a szakgatott szűrés elve alapján többé-kevésbé elválasztani, helyesebb egyelőre arra az álláspontra helyezkedni, hogy mindegyik polysaccharidnak különleges enzime van, annak dacára, hogy ez által az enzimek számát nagyon megnöveljük. Mielőtt a szénhydrátokat bontó enzimek tárgyalásába bocsátkoznám, szükséges a cukrok felismerésére, meghatározására használatos legfontosabb módszereket, továbbá az enzimek alapanyagául szereplő és a polysaccharidok hidrolizálásánál megjelenő legfontosabb cukrok sajátosságait röviden megismertetni. Bevezetésül szolgáljon egy átnézeti tábla az enzimek tanulmányozásában fontos szénhydrátokról.

<i>Monosaccharidok</i>	<i>Polysaccharidok</i>	
<i>Pentózok</i> $C_5H_{10}O_5$	<i>Disaccharidok</i> $C_{12}H_{22}O_{11}$	<i>A teljes hidrolízis eredménye:</i>
l-arabinóz		
l-xylóz	nádcukor, szakkharóz	d-glükóz + d-fruktóz
<i>Hexózok</i> $C_6H_{12}O_6$	trehalóz	d-glükóz
d-glükóz (aldohexóz)	gentiobióz.	d-glükóz
d-mánnóz „	cellóz (cellobióz)	d-glükóz
d-galaktóz „	máltóz	d-glükóz
d-fruktóz (ketohexóz)	izomáltóz	d-glükóz
	laktóz (tejczukor)	d-glükóz + d-galaktóz
	melibióz	d-glükóz + d-galaktóz
	<i>Trisaccharidok</i> $C_{18}H_{32}O_{16}$	
	raffinóz (melitrióz)	d-fruktóz + d-glükóz + d-galaktóz
	gentianóz	d-fruktóz + d-glükóz
	<i>Magasabbrendű polysaccharidok</i>	
	xylan	l-xylóz
	araban	l-arabinóz
	keményítő $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$	d-glükóz
	cellulóz $(C_6H_{10}O_5)_n$	d-glükóz
	glükogén $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$	d-glükóz
	inulin $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$	d-fruktóz

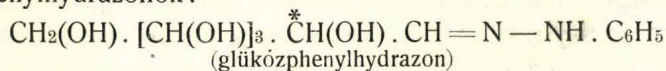
A cukrok hydrazonjairól és oszazonjairól.

A cukroknak elkülönítésére különféle anyagokat tartalmazó oldatból és a különböző cukroknak felismerésére nagyon fontos szerep jut a Fischer Emil-féle *phenylhydrazinnak* és néhány származékának. Magán a phenylhydrazinon $C_6H_5 \cdot NH \cdot NH_2$ kívül különösen a



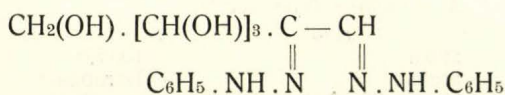
talál gyakori alkalmazást.

A mikor a phenylhydrazin olyan cukrokra hat, a melyekben szabad aldehyd-csoport van, mint például a glükózban, a következő összetételű phenylhydrazonok:



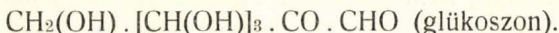
keletkeznek, melyek vízben rendszerint könnyen oldhatók; kivétel a gyakrabban előforduló cukrok közül csak a mánnóz, melynek phenylhydrazonja nehezen oldható. A helyettesített phenylhydrazonok között azonban

gyakran találkozunk nehezen oldható vegyületekkel, melyek a cukrok felismerésére és esetleg leválasztására alkalmasak. A hidrazonokat úgy állítjuk elő, hogy a cukor tömény vizes oldatát a hidrazin alkoholos oldatával elegyítjük és a hydrazinnal egyenértékű ecetsavat elegyítjük még a folyadékhoz. A hidrazonoknak megbecsülhetetlen jó tulajdonsága, hogy belőlük magát a cukrot visszakaphatjuk benzaldehiddel olyan eljárás szerint, mely a mannóz előállításánál le van írva. A cukrok leválasztására és felismerésére még sokkal alkalmasabbak az oszazonok. Ezek akkor keletkeznek, mikor a phenylhydrazin fölöslegben van és a cukrot a hidrazin hatásának forró vízfürdő hőmérsékletén tesszük ki. Ilyenkor a felső képletben csillaggal jelölt atomcsoport ideiglenesen ketoncsoporttá oxidálódik és újabb phenylhydrazinmolekulát köt meg. Ily módon a



szerkezetű oszazonok állnak elő, melyek hideg vízben rendszerint nehezen oldhatók s így olyan folyadékokból is elkülöníthetők, a melyek cukron kívül a legkülönbözőbb anyagokat tartalmazzák. Vigyáznunk kell azonban, hogy a folyadékban proteinek, vagy nagymennyiségű aminosavak ne legyenek, mert ezek az oszazonokat sokszor oldatban tartják. Az oszazonok oldhatóságának vizsgálata tájékoztat mindjárt afelől, hogy a cukor monosaccharid-e, vagy pedig disaccharid. Míg a monosaccharidok, különösen pedig a hexózok oszazonjai forró vízben is nagyon nehezen oldódnak, addig a mostanig ismert összes disaccharid-oszazon forró vízben feloldódik. Ezáltal a két vegyületcsoport oszazonjának elválasztása sikerül. Az oszazonoknak továbbá rendesen jellegzetes kristályalakja és olvadás-, helyesebben bomláshőmérséklete van. Ez utóbbi meghatározásánál összehasonlítható értékeket akkor kapunk, ha a fürdő melegítését lehetőleg gyorsan végezzük, úgy hogy a 20—200^o-ig való hőmérsékletemelkedés 3 percnél több időt ne vegyen igénybe. Az oszazonoknak jó tulajdonságai azonban nem elégítenek ki minden kívánságot. Így a mannóz, fruktóz és glükóz teljesen ugyanazt az oszazont létesíti, tehát ezen az úton egymástól nem különböztethetők meg. Igaz, hogy a mannóznak elválasztása az utóbbi két cukortól már hidrazonjának nehezen oldhatósága alapján sikerül, a másik két cukornál azonban elég nehézséget okoz az elválasztás. Másik baj az, hogy az oszazonképződés nem mennyiségileg lefolyó reakció s így az oszazonok lemerése útján csak megközelítéssel következtethetünk a jelenlevő cukor mennyiségére. Még szomorúbb az a körülmény, hogy az oszazonokból nem juthatunk el ahoz a cukorhoz, a mely kiindulásul szolgált, mert az oszazonok, ha belőlük a phenylhydrazincsoportokat sósavval, vagy

benzaldehyddel leválasztjuk, ketonaldehydekké, az úgynevezett oszonokká alakulnak, például:



Az oszonok előállítása a nehezen oldható oszazonokból sósavval rendkívül kényes művelet, mely csak nagy gyakorlat után sikerül úgy, hogy a termelés kielégítő legyen. Ha az oszont meg is kaptuk, bennük zinkkel és eczetsavval való redukciókor az aldehycsoport redukálódik alkoholcsoporttá. A glükoszon példája esetében tehát nem glükózt kapunk vissza, hanem fruktózt.

Az enzimek tekintetében szerencsésebbek a viszonyok a disaccharidoknál. Ezeknek oszazonjai forró vízben benzaldehyddel bonthatók el a maltoszonnál leírt eljárás szerint és létesítik a megfelelő oszonokat. Az oszonokból ugyan itt sem kaphatjuk meg ugyanazt a cukrot, melyből az oszazont állítottuk elő, de az oszonnak az a tulajdonsága, hogy enzimekkel szemben éppen úgy viselkedik, mint a disaccharid. A disaccharidoknál tehát az oszazonok leválasztása és tüzetes vizsgálata nagyobb látókört nyújthat, mint a monosaccharidoknál. Legújabban Neuberg azt is megmutatta, hogy a disaccharid oszazonokból nem szükséges az oszonokat előállítani, hogy viselkedésüket az enzimekkel szemben, figyelemmel kísérjük, mert erre a célra az oszazonokat magukat is felhasználhatjuk.

Sok esetben a helyettesített phenylhydrazinokkal létesített oszazonok is jó szolgálatokat tesznek a cukrok leválasztásánál.

A cukroknak titrimétriás meghatározása Fehling-féle oldattal.

A meghatározás kiviteléhez kétféle oldat szükséges, melyek közül az egyiket mindig frissen készítjük.

I. oldat. Tiszta cuprisulfátot egyszer híg salétromsavból, azután háromszor vízből átkristályosítjuk, a kivált kristályokat leszűrjük, itatospapiros között megszáritjuk és 12 óráig levegőn hagyjuk állani. A sóból 34.639 g.-ot vízzel 500 cm³-re oldunk. Az oldat sokáig eltartható.

II. oldat. Háromszor átkristályosított Seignette-sóból (borkősavas-kálium nátriumból) 173 g.-ot 400 cm³ vízben oldunk és hozzá 100 cm³ olyan nátriumhydroxidoldatot elegyítünk, mely literenként 516 g. nátriumhydroxidot tartalmaz. Az oldat mindig frissen készítendő.

Mielőtt a tulajdonképpen meghatározáshoz fognánk, előzetes próbában a kérdéses oldatunk cukortartalmát közelítőleg kell megállapítanunk, mert a módszer csak akkor szolgáltat jó eredményt, ha a cukoroldatunk körülbelül 1%-os. E végett az I. és II. oldatból 25—25 cm³-t összeöntünk, porcelláncsészében forrásig melegítjük és a vizsgálandó oldatból, apró részletekben annyit csepegtetünk cm³-re beosztott hen-

gerből a meleg folyadékhoz, a míg látjuk, hogy az oldat a csapadék leülepedése után már nem kékszerű. Tudván azt, hogy milyen cukorral van dolgunk, az alább felsorolt adatok alapján kiszámítjuk, hogy oldatunkat mennyire kell hígítani, hogy körülbelül 1% cukrot tartalmazzon.

Ezután áttérünk a tulajdonképpeni vizsgálatra. Ismét 25—25 cm³-t mérünk le a kétféle Fehling-féle oldatból és az előbb talált cukor-mennyiségnek megfelelő oldatmennyiséget öntjük bele, majd glükóznál, invertcukornál és galaktóznál 2 percig, maltóznál 4 percig, tejcukornál pedig 6 percig tartjuk forrásban a folyadékot, azután pedig kettős szűrőre öntjük. A szüredéket megsavanyítjuk ecetsavval és néhány csepp ferrocyankáliumoldattal elegyítjük. Ha az oldatban még sok réz van, bőséges barna csapadék válik le, a réz csekély mennyiségének jelenlétében halvány rózsaszíntől sötét vörösig terjedő színeződést kapunk.

A szerint, hogy a vizsgálat eredménye milyen volt, a második próbánál több, vagy kevesebb cukoroldatot fogunk alkalmazni, és annyi kísérletet végzünk, a míg két egymásután vett cukoroldat térfogatának különbsége 0.1 cm³ továbbá az egyik próba szüredéke réztől mentes, a másik pedig réztartalmú lesz.

Tegyük fel, hogy a következő próbasorozatunk volt, 50 cm³ Fehling-féle oldatot használva valamennyi kísérletnél.

1. 20 cm³ cukoroldat, a szüredék kékeszöld;
2. 21 cm³ cukoroldat, a szüredék zöldessárga;
3. 22 cm³ cukoroldat, a szüredék sárga; ferrocyankáliummal barna csapadék;
4. 22.5 cm³ cukoroldat, a szüredék sárga; ferrocyankáliummal vörösbarna színeződés;
5. 22.7 cm³ cukoroldat, a szüredék sárga; ferrocyankáliummal rózsaszínű színeződés
6. 22.8 cm³ cukoroldat, a szüredék sárga; ferrocyankáliummal nincs reakció.

Az eredmény tehát 22.7 és 22.8 cm³-nyi cukoroldat között van. Tehát a cukoroldatnak 22.75 cm³-e választ le 50 cm³ Fehling-féle oldatból minden rezet cuprooxid alakban.

A cukormeghatározás alapjául szolgáljanak azok az eredmények, melyeket Soxhlet nagy gonddal végzett kísérletei alapján talált.

Glükóz. 0.5 g. cukrot tartalmazó 1%-os oldat = 105.2 cm³ Fehling-féle oldat. Ha a Fehling-féle oldat térfogatának négyszeres mennyiségű vízzel van felhígítva, akkor 101.1 cm³ Fehling-féle oldat fogy el. Ha a Fehling-féle oldatot főlöszlegben alkalmazzuk, redukció-mértéke nagyobb mint 105.2 cm³.

Invertcukor. 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 101.2 cm³ Fehling-féle oldat. 95 g. cukor 1%-os oldatban = 97 cm³ Fehling-féle oldat + 4 térfogat víz. A Fehling-féle oldat fölöslege növeli a redukciót.

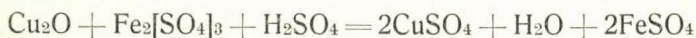
Galaktóz. 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 98 cm³ Fehling-féle oldat. Ha a Fehling-féle oldat négyszeresen fel van hígítva = 94 cm³ Fehling-féle oldat. A Fehling-féle oldat fölöslege nem növeli a redukciót oly nagy mértékben, mint a glukózét és az invert-cukorét.

Fruktóz. 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 97.2 cm³ Fehling-féle oldat. 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 93.0 cm³ Fehling-féle oldat + 4 térfogat víz.

Máltóz. 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 64.2 cm³ Fehling-féle oldat. 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 67.5 cm³ Fehling-féle oldat + 4 térfogat víz.

Laktóz (tejczukor). 0.5 g. cukor 1%-os oldatban = 74.0 cm³ Fehling-féle oldat. Az oldat hígítása és a Fehling-féle oldat fölöslege csak elenyészően csekély hatással van az eredményre.

A fent leírt titrálási eljárás azonban nem mindig végezhető el kifogástalanul. Sokszor nem elég színtelen a vizsgálandó folyadék ahhoz, hogy ferrocyanáliummal kémlelhessünk. Különben is sokkal pontosabb eredményeket szolgáltat a Bertrand-féle módszer, melynek segítségével a leválasztott cuprooxid mennyiségét határozzuk meg titrimétriás úton¹. A cuprooxid mennyiségét gravimétriás úton is meg lehet határozni; a Bertrand-féle módszer segítségével azonban sokkal gyorsabban érjük el az eredményt és a pontosság, ha a kísérleti körülményeket helyesen megtartjuk, teljesen kielégítő. A módszer elve az, hogy a cuprooxid kénsavtartalmú ferrisulfátoldatban cuprisulfáttá alakul, miközben az egyenértékű ferrisulfátot ferrosulfáttá redukálja a következő egyenlet szerint:



A ferrosulfát mennyiségét káliumpermanganáttal titrálva határozzuk meg s ebből az adatból a cuprooxid mennyisége kiszámítható.

Bertrand a meghatározások kiviteléhez a következő 4 oldatot használja:

I. 40 g. tiszta kristályos cuprisulfát 1 literre hígítva.

II. 200 g. Seignette-só (borkősavas káliumnátrium) és 150 g. nátrium-hydroxid (pálcaalakban) 1 literre hígítva.

III. 50 g. ferrisulfát és 200 g. kénsav 1 literre hígítva. A ferrisulfátoldatnak káliumpermanganátoldatot elszíntelenítenie nem szabad. Ha

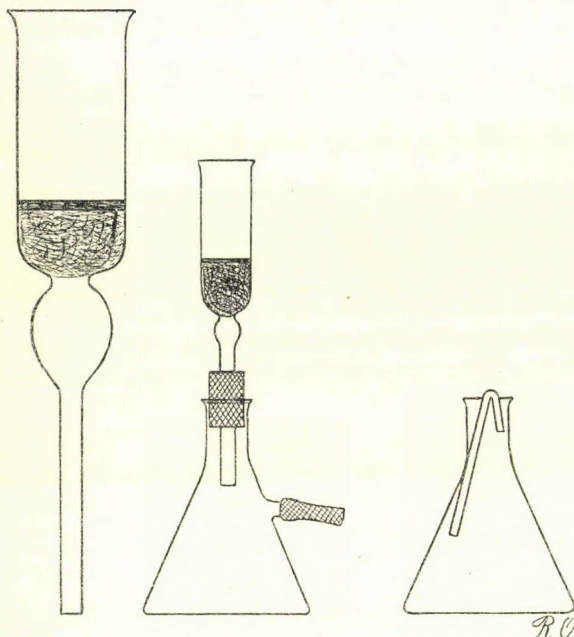
¹ Bertrand G. Bulletin de la Société chimique [3]. 35. 1825, (1906); Funk C. Zeitschrift für physiolog. Chemie 56. 507. 1908.

elszínteleníti, addig csepegtetünk bele káliumpermanganátot, míg a következő csepp hozzáelegyítése után a folyadék már rózsaszínű marad.

IV. 5 g. káliumpermanganát 1 literre hígítva. E helyett azonban czélszerűbb $\frac{1}{10}$ normál káliumpermanganátoldatot használni, mely a legtöbb laboratóriumban egyéb célra úgylis készül.

Az eljárás a következő:

Ha már az előzetes Fehling-féle oldattal végzett megközelítő meghatározással tudjuk, hogy körülbelül mennyi cukor van a vizsgálandó oldatban, akkor belőle 10—90 milligramm cukornak megfelelő



15. rajz. A Bertrand-féle cukormeghatározási eljárásnál alkalmazott szűrőberendezés.

mennyiséget elegyítünk az I. és II. oldat 20—20 cm³-ének elegyéhez, majd a folyadékot Erlenmeyer-féle lombikban felforraljuk és pontosan 3 perczig forrásban tartjuk. Most a lombikot a lángtól levesszük, le hagyjuk jól ülepedni a csapadékot, majd a fölötte lévő folyadékot leszűrjük Fresenius-féle csövecskében azbeszten keresztül, a vízszivattyú segítségével (lásd 15. rajz).

Ügyeljünk azonban, hogy a csapadék lehetőleg az edény fenekén maradjon és

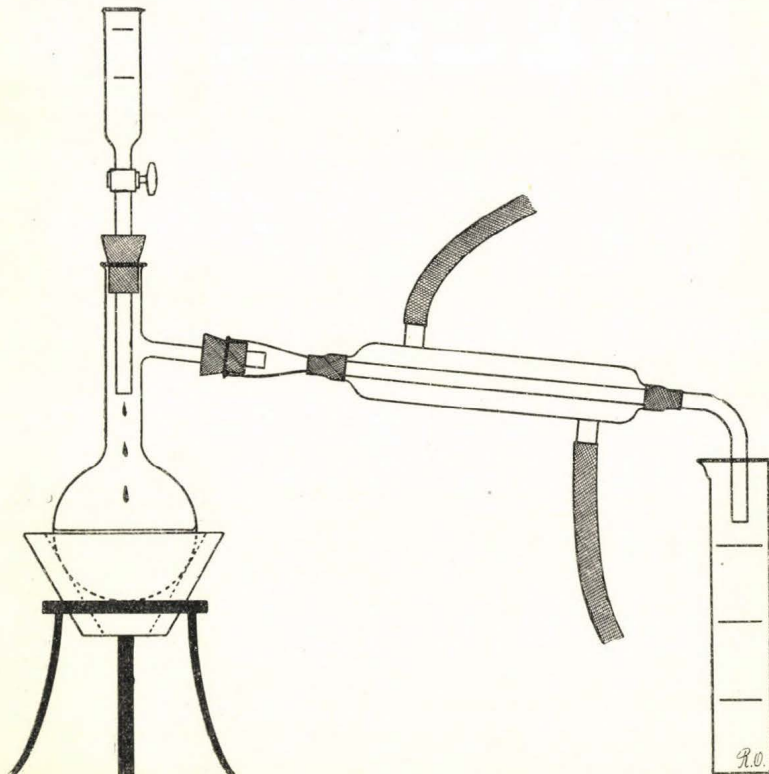
többszöri leöntés után is csak a mosóvizek kerüljenek a szűrőre, mert különben a cuprooxid nehezen oldható csomókká tapad össze. A lombikban és a szűrőben lévő csapadékot vízzel alaposan kimosván, a III. oldat ismert térfogatát öntjük a lombikba. A cuprooxid könnyen feloldódik, különösen ha üvegbottal felkeverjük. Az oldatot most lassan keresztülszűrjük azbesztszűrőn, miközben a rajta lévő cuprooxid is feloldódik. A szűrőt újból kimosván, a szüredéket az ammoniumoxaláttal, vagy oxálsavval beállított káliumpermanganát-oldattal megtitráljuk. A színátmenet rendkívül érzékeny és a folyadék színe a zöldből a rózsaszínbe egy csepp permanganát hozzáelegyítése átsap.

Az egész művelet 15—20 percet igényel. A reakció alapegyenletének ismeretével könnyen kiszámíthatjuk a talált ferrovas mennyiségéből a cuprooxidban lévő réz mennyiségét:

A reakció alapegyenletéből látjuk, hogy minden ferrovasatómmal egy atom réz egyenértékű, a káliumpermanganáttal meghatározott ferrovas mennyiségét¹ tehát egyszerűen a réz és vas atómsúlyának viszonyával

$$\frac{63.6}{55.9} = 1.1377$$

kell megszoroznunk és megkapjuk a réz mennyiségét. Ennek alapján



16. rajz. Furól meghatározására szolgáló készülék.

pedig a következő táblázatok segítségével a közönségesebb czukrok bármelyikének mennyiségét kikereshetjük, illetőleg interpoláció útján kiszámíthatjuk.

A czukrok meghatározása a polarimétriás módszer segítségével.

A módszer alkalmazását már a bevezetésben megismertük adott példán; itt csak a forgatótehetség meghatározásáról kell röviden szólnom.

¹ Lásd Lengyel Béla, A kvantitativ chemiai analízis, 141. és 151. lap.

Cukormennyiség mg.-ban	A réz mennyisége milligrammokban				
	glükóznál	invert-cukornál	galaktóznál	máltóznál	tejcukornál
10	20.4	20.6	19.3	11.2	14.4
11	22.4	22.6	21.2	12.3	15.8
12	24.3	24.6	23.0	13.4	17.2
13	26.3	26.5	24.9	14.5	18.6
14	28.3	28.5	26.7	15.6	20.0
15	30.2	30.5	28.6	16.7	21.4
16	32.2	32.5	30.5	17.8	22.8
17	34.2	34.5	32.3	18.9	24.2
18	36.2	36.4	34.2	20.0	25.6
19	38.1	38.4	36.0	21.1	27.9
20	40.1	40.4	37.9	22.2	28.4
21	42.0	42.3	39.7	23.3	29.8
22	43.9	44.2	41.6	24.4	31.1
23	45.8	46.1	43.4	25.5	32.5
24	47.7	48.1	45.2	26.6	33.9
25	49.6	49.8	47.0	27.7	35.2
26	51.5	51.7	48.9	28.9	36.6
27	53.4	53.6	50.7	30.0	38.0
28	55.3	55.5	52.5	31.1	39.4
29	57.2	57.4	54.4	32.2	40.7
30	59.1	59.3	56.2	33.3	42.1
31	60.9	61.1	58.0	34.4	43.4
32	62.8	63.0	59.7	35.5	44.8
33	64.6	64.8	61.5	36.5	46.1
34	66.5	66.7	63.3	37.6	47.4
35	68.3	68.5	65.0	38.7	48.7
36	70.1	70.3	66.8	39.8	50.1
37	72.0	72.2	68.6	40.9	51.4
38	73.8	74.0	70.4	41.9	52.7
39	75.7	75.9	72.1	43.0	54.1
40	77.5	77.7	73.9	44.1	55.4
41	79.3	79.5	75.6	45.2	56.7
42	81.1	81.2	77.4	46.3	58.0
43	82.9	83.0	79.1	47.4	59.3
44	84.7	84.8	80.8	48.5	60.6
45	86.4	86.5	82.5	49.5	61.9
46	88.2	88.3	84.3	50.6	63.3
47	90.0	90.1	86.0	51.7	64.6
48	91.8	91.9	87.7	52.8	65.9
49	93.6	93.6	89.5	53.9	67.2
50	95.4	95.4	91.2	55.0	68.5
51	97.1	97.1	92.9	56.1	69.8
52	98.9	98.8	94.6	57.1	71.1
53	100.6	100.6	96.3	58.2	72.4
54	102.3	102.3	98.0	59.3	73.7
55	104.1	104.0	99.7	60.3	74.9
56	105.8	105.7	101.5	61.4	76.2
57	107.6	107.4	103.2	62.5	77.5
58	109.3	109.2	104.9	63.5	78.8
59	111.1	110.9	106.6	64.6	80.1
60	112.8	112.6	108.3	65.7	81.4
61	114.5	114.3	110.0	66.8	82.7
62	116.2	115.9	111.6	67.9	83.9
63	117.9	117.6	113.3	68.9	85.2
64	119.6	119.2	115.0	70.0	86.5

Czukromennyiség mg.-ban	A réz mennyisége milligrammokban				
	glükóznál	invert-czukornál	galaktóznál	máltóznál	tejcukornál
65	121.3	120.9	116.6	71.1	87.7
66	123.0	122.6	118.3	72.2	89.0
67	124.7	124.2	120.0	73.3	90.3
68	126.4	125.9	121.7	74.3	91.6
69	128.1	127.5	123.3	75.4	92.8
70	129.8	129.2	125.0	76.5	94.1
71	131.4	130.8	126.6	77.6	95.4
72	133.1	132.4	128.3	78.6	96.6
73	134.7	134.0	130.0	79.7	97.9
74	136.3	135.6	131.5	80.8	99.1
75	137.9	137.2	133.1	81.8	100.4
76	139.6	138.9	134.8	82.9	101.7
77	141.2	140.5	136.4	84.0	102.9
78	142.8	142.1	138.0	85.1	104.2
79	144.5	143.7	139.7	86.1	105.4
80	146.1	145.3	141.3	87.2	106.7
81	147.7	146.9	142.7	88.3	107.9
82	149.3	148.5	144.6	89.4	109.2
83	150.9	150.0	146.2	90.4	110.4
84	152.5	151.6	147.8	91.5	111.7
85	154.0	153.2	149.4	92.6	112.9
86	155.6	154.8	151.1	93.7	114.1
87	157.2	156.4	152.7	94.8	115.4
88	158.8	157.9	154.3	95.8	116.6
89	160.4	159.5	156.0	96.9	117.9
90	162.0	161.1	157.6	98.0	119.1

A cukor mennyisége mg.-ban	A réz mennyisége milligrammokban		
	mannóz	arabinóz	xülóz
10	20.7	21.2	20.1
20	40.5	41.9	39.6
30	59.5	62.0	58.7
40	78.0	81.5	77.3
50	95.9	100.6	95.4
60	113.3	119.3	113.2
70	130.2	137.5	130.6
80	146.9	155.3	147.6
90	163.3	172.7	164.2
100	179.4	189.8	180.5

A készüléken egy szöveget olvasunk le, melyet rendszeren α -val jelölünk, ebből kiszámíthatjuk a specifikus forgatótehetséget $[\alpha]$ -t a következő képlet alapján:

$$[\alpha]_D^t = \frac{100\alpha}{l \cdot p \cdot d}$$

A képletben $[\alpha]_D^t$ a sárga nátrium fényre vonatkozó specifikus forgató-

tehetséget jelenti, l a cső hossza, melyben a meghatározás történt dm.-ben kifejezve, p az oldat 100 súlyrészében foglalt aktív anyag súlya grammokban, d az oldat sűrűsége t hőmérséklet mellett, melyen a leolvasás történt, 4° -os vízegységre vonatkoztatva.

A polarizáló készülék leírását és a forgatótehetség meghatározásának kivitelét itt mellőzöm és utalok Landolt, „Das optische Drehungsvermögen“, II. Auflage, Braunschweig, 1898, című munkájára, melyben minden részletkérdésre nézve is található útbaigazítás.

Az enzimek tekintetében fontosabb cukrok jellemző tulajdonságai.¹

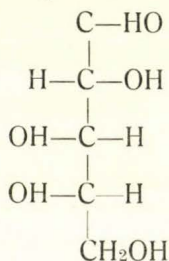
Monosaccharidok.

Pentózok.

D-arabinóz.



Szerkezetét és térbeli elhelyezését a következő vázlat mutatja



Előfordulása szabad állapotban kétes; talán az *Adonis vernalis* levelében van jelen. Annál gyakoribb magasabbrendű polysaccharidokban, különösen pentozánokban és gummikban, a hol még ismeretlen szerkezetű anhydrid alakjában, legtöbbször xylóz anhydridjével együtt fordul elő. Ezek a polysaccharidok hidroliziskor arabinózt létesítenek. Néhány glükózid, (például a Barbaloin) hidrolizisének is megjelenik az arabinóz. Előállítása legkönnyebben a cseresznyegummiból történik. Ezt 3·75%-os kénsavval 4 óra hosszat vízfürdőben hidrolizáljuk, az oldatot calciumcarbonáttal, vagy báriumhydroxiddal közömbösítjük a szüredéket vákuumban besűrítjük és a maradékot 96%-os alkohollal főzzük ki, miközben az arabinóz feloldódik. A besűrített alkoholos oldat nyers terméket szolgáltat, melyet vizes alkoholból ismét átkristályosítunk.

Színtelen, fénylő, rombos tűkben, vagy prizmákban kristályosodik. 160°-on olvad. Vízben könnyen, 1·5 súlyrészben, alkoholban kevésbé

¹ A cukroknak kimerítő tárgyalását megtaláljuk Lippmann, Chemie der Zuckerarten, Braunschweig, 1904, munkájában.

oldódik. Íze édes, forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +104.4^0 - 105.4^0$. Forgatótehetsége a koncentrációval és a hőmérséklettel változik. Friss oldatokban multirotáció észlelhető, mely ammonia jelenlétében nem mutatkozik. 100^0 -ra hevítve már bomlani kezd, magasabb hőmérsékleten furol keletkezik belőle. Nátriumamalgam arabittá, öt vegyértékű alkohollá: $C_5H_{12}O_5$ redukálja, brommal oxidálva *l-arabonsavat*: $C_5H_{10}O_6$ létesít. Salétromsavval, a körülmények szerint, *l-arabonsav*, vagy *l-trioxyglutársav* keletkezik, aszerint, hogy csak az aldehyd-csoport alakul át karboxillá, vagy ezen kívül még az utolsó: $CH_2(OH)$ csoport is. A Fehling-féle oldatot redukálja és oszazont is létesít.

Kimutatására az általános pentóz színreakciókon kívül (orcin, phloroglucin, stb.) alkalmas az oszazon és a diphenyl hydrazonja. Mennyiségi meghatározására, ha a cukor egyedül van jelen, kényelmes a Fehling-féle oldattal való titrálás. Diphenylhydrazonja alakjában leválasztható és ezáltal a pentozánoktól elkülöníthető. Használják gyakran azt a módszert is, hogy az arabinóz híg kénsavval desztillálva furolt létesít. A furol mennyisége a phloroglucid, vagy a barbitursav származéka alakjában jól meghatározható s így az eredeti arabinóztartalmat kiszámíthatjuk. Sok esetben ajánlatos a reakcióelegyből előbb az arabinózt dyphenyl hydrazonvegyülete alakjában leválasztani és ezt furollá változtatni.

A furolmódszer kivitele céljából a körülbelül 300 cm^3 tartamú lombikba tesszük a meghatározandó anyagot és fémfüldőben 100 cm^3 1.06 fajsúlyú sósavval melegítjük, úgy hogy a folyadék élénken forrjon. Ha 30 cm^3 -nyi folyadék átdestillált, a csapos tölcseren keresztül ugyanannyi sósavat eresztünk a lombikba és a destillálást annyiszor ismételjük, a míg a párladék ecetsavas anilinnal itatott papirost már nem vörösít meg, a mi azt mutatja, hogy furfurol már nem párolog át. (16. rajz.)

Most 400 cm^3 -re hígítjuk fel a párladékot és annyi sósavba oldott phloroglucinnal elegyítjük, a mennyi arabinózt körülbelül várunk és a leválat barnazöld csapadékot $GOOCH$ -tégelyben összegyűjtjük, 150 cm^3 vízzel kimossuk és 4 óra hosszat tartó 97^0 -on való szárítás után mérlegeljük. A phloroglucid mennyiségéből a Kröber-féle táblázat alapján¹ kiszámítjuk az arabinóz mennyiségét. Ebben a táblázatban a xylózra, xylánra és pentozánokra is vannak adatok.

Az arabinóz fontosabb származékai:

l-arabinóz-diphenylhydrazon. $C_{12}H_{20}O_4N_2$ mennyiségileg válik le 15 percznyi melegítés, vagy 24 órai állás után, ha az arabinóz tömény vizes oldatát, melyben 1.5 g . arabinóz van oldva, 1.85 g . diphenylhydrazin-

¹ Lásd: E. Abderhalden, Arbeitsmethoden II., 154—155 lap, vagy König, Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe, III. kiadás.

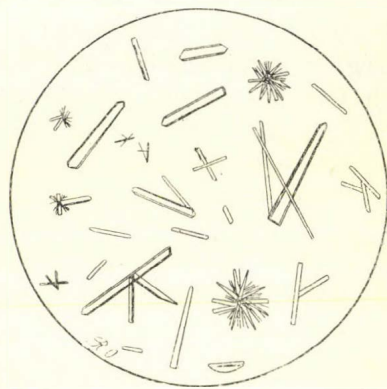
nak alkoholos oldatával elegyítjük. Fehér tűk, melyek gyors hevítés alkalmával $216\text{--}218^{\circ}$ -on olvadnak. Ha a hydrazonból 0.2 g. -mot 4 cm^3 pyridin és 6 cm^3 alkohol elegyibe oldjuk, a forgatótehetség 10 cm^3 hosszú csőben $[\alpha]_D = +0^{\circ}, 42'$. A diphenylhydrazon az arabinóz leválasztására nagyon alkalmas.

l-arabinóz-phenyloszazon. $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3$. Acetonból arsensárga kristályokban jelenik meg. Ezeknek mikroszkópi képét a mellékelt rajz mutatja. (17. rajz.)

. Olvadáspontja 160° . Hideg vízben, éterben, benzolban, ligroinban oldhatatlan, ellenben forró vízben, alkoholban, acetonban, pyridinben könnyen oldható. Az oszazonból 0.2 g. -mot 4 cm^3 pyridin és 6 cm^3 alkohol keverékében oldva, 1 cm^3 hosszú csőben a forgatótehetség



17. rajz. Arabinoszazon kristályok.

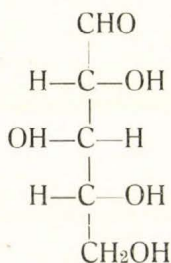


18. rajz. Xülsavas kadmiumbrom kristályok.

$[\alpha]_D = +1^{\circ} 10'$. A 4% -os alkoholos oldat eleinte $+19^{\circ}$ -nyi forgatótehetséget mutat, mely azonban gyorsan eltűnik.

l'Xülóz.

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$



Anhydridszerű származékai (pentoánok) a növényvilágban nagyon elterjedtek. Különösen a xülán, vagy fagummi kísérője a lignocellulózoknak úgyszólván valamennyi fában. Előállítására is legegyszerűbb a xülánból

kiindulni. Ezt 1 óra hosszat 2%-os sósavval főzzük, majd a szüredéket ólomcarbonáttal közömbösítjük, a megszürt oldatot vákuumban besűrítjük, a kiváló ólomchloridot eltávolítjuk, a szüredékből, alkohollal a még oldatban levő ólomchloridot kicsapjuk, majd a megszürt oldatot besűrítve, állni hagyjuk. Nemsokára kikristályosodik a xülóz, melyet átkristályosítással tisztítunk.

Szintelen, monoklin tűkben, vagy hosszú, kihegyezett prizmákban kristályosodik. Vízben és forró alkoholban könnyen, hideg alkoholban és éterben nem oldódik. Íze édes; olvadáspontja a különböző szerzők szerint 140 és 154° között ingadozik. Forgatótehetsége a koncentrációival erősen változik. Ha p az oldat xülóztartalmát jelenti százalékban, akkor $p < 34.3$ esetében

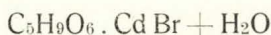
$$[\alpha]_D = +18.095 + 0.06986 p,$$

ha pedig $p > 34.3$, akkor

$$[\alpha]_D = +23.089 - 0.1827 p + 0.00312 p^2.$$

tapasztalati kifejezés közelíti meg legjobban a valóságos értékeket: Frissen készült hideg oldatán multirotációt észlelhetünk. Ha vizes oldatából a xülózt alkohol és éter elegyével kicsapjuk, olyan módosulat alakjában válik ki, a melynek forgatótehetsége +31 és 41° között ingadozik. Nátriumamalgammal öt vegyértékű alkohollá, a xülitet $C_5H_{12}O_5$ redukálható; brommal oxidálva az l-xülonsavat $C_6H_{10}O_6$ létesíti. Ha salétromsavval oxidáljuk, xülotrioxiglutársav keletkezik belőle. Savakkal desztillálva furol származik belőle.

Mínőségi kimutatására az általános pentózreakciókon kívül nagyon alkalmas a l-xülonsavvá való átalakítása bróm segítségével. E végett a xülózt tartalmazó oldatot annyi brómmal hagyjuk két napig állni, hogy a bróm mindég fölöslegben legyen, a mi az oldat barna színéről ismerhető fel. Miután a szabad brómot az oldatból kiforraltuk, cadmium-carbonátot szórunk bele apró részletekben és negyed óráig főzzük. A forrón megszürt folyadékból némelykor mindjárt kihülés után kiválik a xülonsavas cadmiumbromid



melynek kristályalakja mikroszkóp alatt nézve a 18. rajzon látszik.

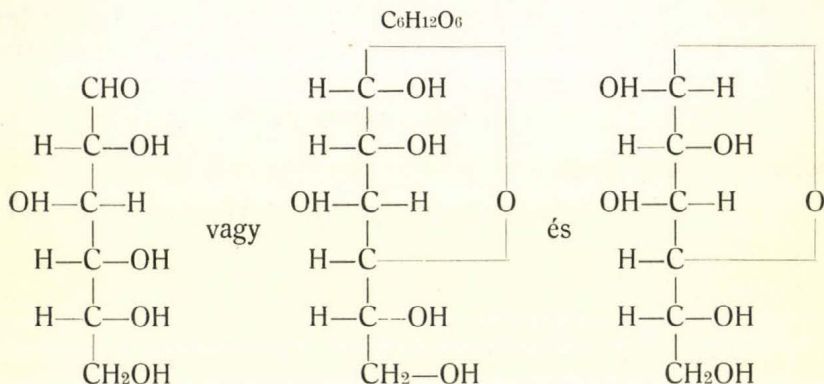
Ha nem válik ki a só mindjárt, az oldatot besűrítjük és alkohollal elegyítjük. Jellemző továbbá a xülóz oszazonja, mely az arabinóz analog vegyületével ellentétben megtartja forgatótehetségét pyridin és alkohol elegyében. Diphenylhydrazinnal nem ad nehezen oldható hydrazont, mint az arabinóz. Mennyiségi meghatározása, vagy Fehling-féle oldattal, vagy a savakkal való desztilláláskor keletkező furol phloroglucid-vegyületének megmérése alapján alapszik.

Fontosabb származéka a *xüloz phenyloszazon*. $C_{17}H_{20}N_4O_3$. Világos sárga tűk, vagy prizmák, melyeknek képét mikroszkóp alatt a 19. rajz mutatja.

Olvadáspontja $160-170^{\circ}$ körül van. Éterben és acetonban könnyen oldódik, vízben nehezen. $4^{\circ}/_0$ -os alkoholos oldata 1 dm.-es csőben -1.47° forgat.

Hexózek.

d-Glükóz (szőlőcukor).



A növények valamennyi részében gyakran megtaláljuk szabad állapotban a glükózt. Számos esetben a glükozidokban, kötött állapotban, fordul elő. Az állatvilágban is megjelenik ez a cukor, még pedig a vér savójában, továbbá egyéb nedvekben, az izmokban, a májban, izzadmányokban. Cukorbetegség és számos rendellenes és kóros állapotban a vizelet glükózt tartalmaz. A legtöbb polysaccharid hidrolízis termékei között megtaláljuk a glükózt. Előállítására céljából is ilyen polysaccharidot, a keményítőt, hidrolizálják savakkal.¹

A glükóz két módosulatban ismeretes, melyek a fent vázolt laktonos képletek szerint jelölhetők.

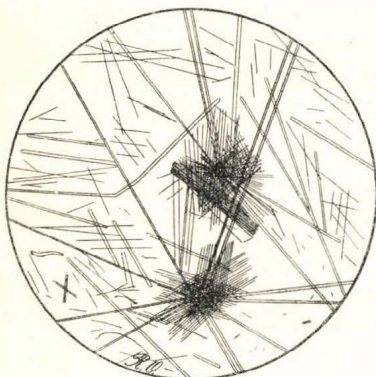
α -módosulat. Közöséges hőmérsékleten vízből kristályvízzel, magasabb hőmérsékleten vízből, továbbá alkoholból anhydrid alakban kristályosodik. Vízben oldva forgatótehetsége $[\alpha]_D = +106^{\circ}$, mely lassan $[\alpha]_D = +52.5^{\circ}$ -ra apad le, miközben a *β -módosulat* áll elő.

A *β -módosulatot* úgy állítjuk elő, hogy 12 g. glükózt 30 g. piridinben feloldva, 10 perczig forralunk, majd 32 óra hosszat rázógéppel rázunk. 14 órai állás után a kivált kristályokat leszűrjük és megszáritjuk. Olvadáspontja $140-150^{\circ}$ körül van. A forgatótehetség 8 percczel a feloldás után $[\alpha]_D = +23$; 24 óra múlva $[\alpha]_D = +52.70^{\circ}$. Keletkezik akkor

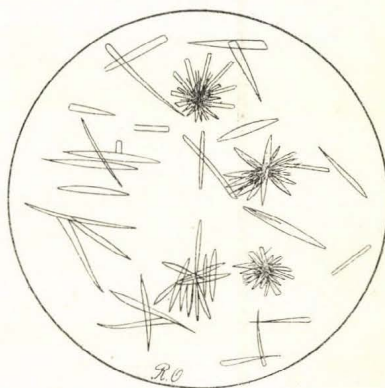
¹ Lásd bővebben: K o s u t á n y, A mezőgazdasági kémiai technológia alapelvei. 38—47. lap.

is, ha az α -módosulat vizes oldatát lepárolgatjuk, a száraz maradékot vízben oldjuk és jéghideg alkohollal kicsapjuk. A kivált kristályok állandó forgatótehetsége $[\alpha]_D = +52.5^\circ$.

A víztől mentes glükóz rhombos hemiéderez, kemény tűkben kristályosodik, melyek $144-147^\circ$ között olvadnak. A glükóz hidratja $C_6H_{12}O_6 + H_2O$ hatszöges táblákban, vagy oszlopokban válik ki oldataiból. Olvadáspontja $80-90^\circ$ közé esik a legtöbb szerző adatai szerint. Az olvadáspont ingadozása valószínűleg onnan ered, hogy a hidrat fokozatosan anhydriddé alakul. Vízben nagyon könnyen, alkoholban nehezen oldódik; azonkívül könnyen oldódik glicerinben, anilinben, pyridinben.



19. rajz. Xülopñenyloszazon kristályok.



20. rajz. Savanyú czukorsavas kálium kristálykák.

Olyan vizes oldatok átlagos forgatótehetsége, melyek 14% -nál több glükózt nem tartalmaznak, L a n d o l t szerint:

$$[\alpha]_D = +52.85^\circ.$$

Ha a forgatótehetséget különböző koncentrációkra akarjuk kiszámítani, akkor a következő függvényeket használhatjuk, melyekben p a 100 súlyrész oldatban foglalt glükóz mennyiségét jelenti.

A hydrátra nézve

$$[\alpha]_D = +47.73 + 0.015534 p + 0.0003883 p^2$$

az anhydridra nézve

$$[\alpha]_D = 52.50 + 0.018796 p + 0.00051683 p^2.$$

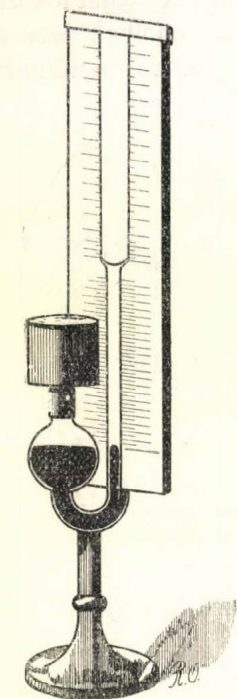
Frissen készült hideg glükózoldatokon multirotációt lehet észlelni, mely eleinte $[\alpha]_D = +150^\circ$ és 6 óra múlva észlelhető csak az állandó forgatótehetség. Ammonia jelenléte a multirotációt megakadályozza. Nátriumalgammal redukálva savanyú oldatban a d-szorbit $C_6H_{14}O_6$ hat vegyértékű alkoholt létesíti, lúgos oldatban csekély mennyiségű mannit is keletkezik, valószínűleg, mert gyenge lúgok hatására a glükóz részle-

gesen előbb fruktózzá és mannózzá alakul és ezek eredményezik a mannitot. Bróm hatására d-glukonsav $C_6H_{12}O_7$, salétromsav hatására a kétbázisú d-czukorsav $C_6H_{10}O_8$ képződik belőle. A Fehling-féle oldatot redukálja.

Minőségi meghatározására, ha a glükóz egyedül van jelen, alkalmas a folyadékot salétromsavval oxidálni. E célból az oldatot 1·15 fajsúlyú salétromsavval folytonos keverés közben, vízfürdőben melegítjük és sziruppá pároljuk le. A maradékot vízben oldva ismét lepárolgatjuk addig, a míg a tömeg nem kezd barnulni. Most a tömeget meleg vízben oldjuk, káliumcarbonáttal telítjük és 50%-os eczetsavval vegyítve, besűrítjük, azután állani hagyjuk. Nemsokára kikristályosodik a czukorsav savanyú káliumsója $C_6H_9O_8K$ apró szintelen tűkben, melyek hideg vízben nem könnyen oldódnak. A kristályok mikroszkópi képét a 20. rajz mutatja.

Jellemző továbbá a glükóznak a phenyl-oszazonja és a diphenylhydrazonja.

Mennyiségi meghatározására alkalmas a polarimetriás eljárás; adatainak a Fehling-féle oldattal megállapított redukziós eredményekkel meg kell egyeznie. Nagyon kényelmes a glükóz megközelítő meghatározása alkoholos erjedés útján, a mikor a kimosott élesztővel gondosan elkevert czukoroldatot alkalmas készülékben hagyjuk erjedni s a fejlődő széndioxid térfogatát állapítjuk meg. Ilyen célra többek között nagyon alkalmas a Lohmstein-féle készülék, melyet a 21. rajz mutat be.



21. rajz. A glükóznak erjesztés útján való meghatározására szolgáló készülék.

A készülék tekéjét megtöltjük higanyval, úgy hogy az a készülékre akasztott skálának 0 beosztásáig érjen. Most 2 g. élesztőt 6 cm^3 vízzel szétörzsölünk s ebből 0·2 cm^3 -t, a vizsgálandó oldatból pedig 0·5 cm^3 -t öntünk a tekébe a higany fölé és a tekét gondosan elzárjuk a beköszörült dugóval, majd még a rajzban látható súlyt helyezzük a dugóra. A készülék egy napig áll érintetlenül. E közben a vizsgálandó folyadék erjed, a keletkezett széndioxid nyomása pedig a tekében a skála mellett levő eudiométercsőbe felhajtja a higanyt. A skálán mindjárt a czukorszázalékot olvashatjuk le. Különböznél használhatjuk a széndioxid volumetriás meghatározására akár a Bunte-, akár a Winkler-féle gázbürettát. Ilyenkor minden cm^3 széndioxid 760 mm. nyomás és 0°-ra redukálva 0·004 g. glükózt jelez.

A glükóz alkoholos, tejsavas, vajsavas, valeriánsavas és nyálkás erjedésre képes.

Fontosabb származékai:

α -pentaacetyl-glükóz. $C_6H_7(C_2H_3O)_5O_6$. 10 g. glükózt 80 g. acetylchloriddal 8 óra hosszat hagyunk állni, a tömeget chloroformban oldjuk, kiizzított szódával rázzuk, a chloroformot elűzzük, a maradék fölé étert rétegezzük. Nemsokára kristályosodás áll be. A nyersterméket alkoholból átkristályosítjuk. Színtelen tűk válnak ki, melyek $112-113^\circ$ -on olvadnak. Forró vízben, chloroformban, benzolban és eczetsavban könnyen, hideg vízben nehezen oldódik. Forgatótehetsége chloroformban $[\alpha]_D = +101.75^\circ$, benzolban $+99^\circ$.

β -Pentaacetyl-glükóz. $C_6H_7(C_2H_3O)_5O_6$. 20 g. glükózt 50 cm³ eczetsavanhydriddal és 10 g. víztől mentes nátriumacetáttal vízfürdőn melegítünk, miközben heves reakció áll be. Néhány perczig forraljuk a sárgásbarna folyadékot, majd az eczetsavat vákuumban ledestilláljuk; a maradékot vízbe öntjük és mikor megmerevedett, alkoholból átkristályosítjuk. Hideg vízben és ligroinban nem oldódik, könnyen oldható alkoholban, éterben, chloroformban és benzolban, nehezebben meleg vízben és eczetsavban. Olvadáspontja $130-131^\circ$. Forgatótehetsége chloroformban $[\alpha]_D = +3.70$, benzolban $+2.8^\circ$.

β -acetobrom-glükóz. $C_{14}H_{19}O_9Br$. Legkényelmesebben úgy állítható elő, hogy a β -pentaacetyl-glükózt olyan jégecetben oldjuk fel, mely hidrogénbromiddal van telítve. Fél órai állás után a folyadékot jeges vízbe öntjük, a kiváltott csapadékot éterben oldjuk, nátriumhydrocarbónáttal mossuk, az éteres oldatot kiizzított nátriumsulfáttal megszáritjuk és bepárologatjuk. A maradékot petroleuméterből átkristályosítjuk. Hosszú tűkben válik ki. Olvadáspontja $88-89^\circ$. Könnyen oldódik alkoholban, chloroformban, benzolban, nehezebben éterben és methylalkoholban, még nehezebben vízben és petroleuméterben. Forgatótehetsége chloroformban $[\alpha]_D^{20} = +198^\circ$. Nagyon alkalmas reakciókra. Segítségével könnyen állíthatunk elő β -alkoholglükozidot, ha az acetobromvegyületet az alkohol oldatában ezüstcarbonáttal rázzuk. A mesterséges diszaccharidok előállításánál is fontos szerep jutott az acetobromglükóznak.

Glükóz-diphenylhydrazon. $C_6H_{12}O_5 = N - N(C_6H_5)_2$. A glükózt kevés vízben oldjuk és a diphenylhydrazinnak 16 s. r. alkoholban készült oldatával elegyítjük. Forró vízből színtelen prizmákban kristályosodik. Olvadáspontja 161° . Vízben és alkoholban könnyen, éterben, chloroformban, benzolban nem oldható.

Glükóz-phenyloszazon. $C_{18}H_{22}N_4O_4$. Czitromsárga hosszú tűk, melyeknek mikroszkóppal látható képét a 22. rajz mutatja.

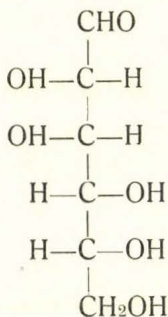
Olvadáspontja 205° . Vízben nagyon nehezen oldható, kevésbé oldódik alkoholban és acetonban, könnyen pyridinben. 0.2 g. oszazon 4 cm³

pyridinnek és 6 cm³ alkoholnak elegyében oldva 1 dm. hosszú csőben — 1° 30'-nyi forgatótehetséget mutat.

α-methyl-glükózid. C₇H₁₄O₆. 1 s. r. glükózt 4 s. r. forró abszolút methylalkoholban oldunk, mely 0·25% sósavgázt tartalmaz, majd az oldatot 50 óra hosszat 100°-ra hevítjük. A besűrített folyadékból kikristályosodik a vegyület. Rhombos prizmákban válik ki, melyeknek olvadáspontja 165—166°. Forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +157\cdot5$ (koncentráció = 8). 1·6 s. r. vízben, 200 s. r. absz. alkoholban oldódik. Íze édes. A Fehling-féle oldatot nem redukálja. Savakkal és enzimekkel hidrolizálva, glükózra és methylalkoholra bomlik. Tetraacetylszármazéka 100°-on olvad, forgatótehetsége benzolban $[\alpha]_D^{20} = +175^0$, alkoholban $+137^0$.

β-methyl-glükózid. C₇H₁₄O₆ + $\frac{1}{2}$ H₂O. Acetobró-m-glükózt abszolút methylalkoholban oldunk és 2 napig állni hagyjuk, mikor a β-methyl-glükózid keletkezik.¹ Ha az α-methyl-glükózid kikristályosodása után talált anyalúgokat besűrítjük, a β-származék válik ki kristályosan. Színtelen lemezek, vagy négyzetes oszlopok. Olvadáspontja 108—110°. Forgatótehetsége olyan vizes oldatban, melynek koncentrációja 8, $[\alpha]_D^{20} = -31\cdot85^0$. A víztől mentes anyag 1·72 s. r. vízben és 67 s. r. abszolút alkoholban oldható. Íze édes. A Fehling-féle oldatot nem redukálja; savakkal és enzimekkel glükózra és methylalkoholra bomlik. A tetraacetylszármazéka 104—105°-on olvad, forgatótehetsége benzolban $[\alpha]_D^{20} = -27\cdot4^0$, alkoholban $-27\cdot2^0$.

d-mannóz.

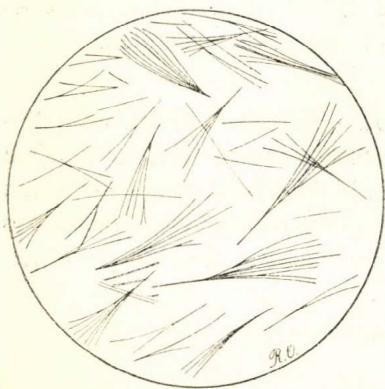


Szabad állapotban megtalálták az Amorphophallus Konjaku japán növényben, a narancs héjában és még néhány más növényben. Sokkal gyakrabban fordul elő anhydridjeinek alakjában, melyeket mannánoknak neveznek. Ilyeneket találunk például a szentjánoskenyér magvában, a

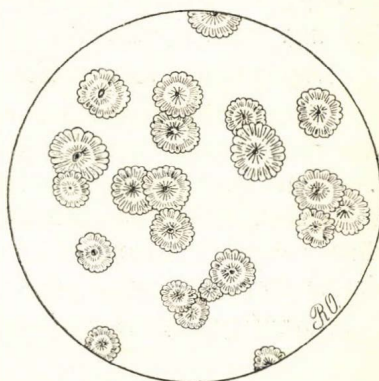
¹ Koenig W. és Knorr E.: Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft 34, 965 (1901).

phytelephas macrocarpa termésében stb. Különben a mannánok rendszerint egyéb anhydridekkel közösen jelennek meg: vannak galakto-, glüko- és fruktomannánok, a szerint, hogy milyen hexóz kíséri a mannán-hidroliziskor keletkező mannózt.

A mannóz előállítására szintén mannánokat használunk. Legcél- szerűbb a *Phytelephas macrocarpa* termésének reszelékéből kiindulni, a melyet gombkötőknél lehet beszerezni, mert a termésből rendkívül kemény és szívós szöveténél fogva gombokat esztergályoznak. 200 g.-ot a finom és megszitált reszelékből 400 g. 6%-os sósavval 6 óra hosszat melegítünk vízfürdőben, miközben a tömeget gyakran összerázzuk. Azután vásznon átszűrjük a reszeléket, még egyszer 400 cm³ vízzel lúgozzuk ki, ismét leszűrjük és kisajtoljuk. Az egyesített szüredékeket vérszénnel szin- telenítvén, a levét nátriumhydroxiddal közömbösítjük, ismét szintelenítjük,



22. rajz. Glükózphenyloszazon kristályok.



23. rajz. Mannózphenylhydrazon kristályok.

majd 50 g. phenylhydrazinból és 100 cm³ 25%-os eczetsavból készült oldattal elegyítjük össze. Nemsokára megindul a nehezen oldható mannóz-phenylhydrazinnak kikristályosodása. Néhány órai állás után a csapa- dékot leszűrjük és hideg vízzel kimossuk. A nyerstermék körülbelül 75 g., s ezt csak átkristályosítása után czélszerű mannózzá feldolgozni. A hydrazon átkristályosítása azonban nagyon nehéz, mert forró vízben is nehezen oldódik (80—100 s. részben) s az oldatból rendesen narancs- sárga kristályokban válik ki és nagyon sok elvész belőle. Legjobb 50%-os forró alkoholból átkristályosítani, melyhez még néhány cm³ pyridint is elegyítünk. Ebből az oldatból, ha a pyridin helyes arányát eltaláltuk, nemsokára majdnem színtelen selyemfényű prizmákban kristályosodik ki a hydrazon. Ezt finom porrá dörzsölve, belőle 25 g.-ot 600 cm³ forró vízbe adagolunk, melyben 12 g. benzaldehdyet keverünk el turbinával. Ha a turbina jól működik, nemsokára megkezdődik a nehezen oldható

benzaldehydphenylhydrazon kiválása és a reakció körülbelül $\frac{1}{2}$ óra alatt befejeződik. A szüredékből a benzaldehydet kioldjuk éterrel és a vizes oldatot vérszénnel színtelenítvén, vákuumban besűrítjük. A szirupot mannózkristályokkal beoltva, methylalkohollal elegyítjük, mire a kristályosodás megindul.

Rhombos, nedvszívó kristályokban válik ki. Olvadáspontja 132° . Vízben nagyon könnyen, alkoholban nehezen oldható. Íze édes. Multirotációja erős; a feloldás után 3 percczel $[\alpha]_D = -13.7^{\circ}$, 6 óra múlva pedig $[\alpha]_D = +14.25^{\circ}$. Nátriumamalgam *d*-mannittá ($C_6H_{14}O_6$) redukálja; bróm *d*-mannonsavat ($C_6H_{12}O_7$) eredményez. A Fehling-féle oldatot redukálja.

Kimutatása és mennyiségi meghatározása azon alapul, hogy phenylhydrazonja vízben nehezen oldható. Ha egyedül van az oldatban jelen, Fehling-féle oldattal meghatározható; 1 cm^3 Fehling-féle oldatból 4.307 mg . mannóz választ le minden rezer cuprooxid alakjában.

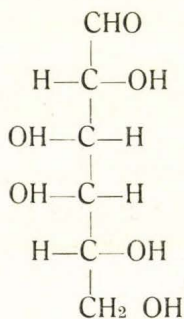
Legfontosabb származékai.

Mannóz-phenylhydrazon. $C_{12}H_{18}N_2O_5$. Rhombos táblákban, illetőleg prizmákban válik ki, melyeknek mikroszkóppal látható képét a 23. rajz mutatja. Olvadáspontja $195-200^{\circ}$. Oldódik körülbelül $80-100\text{ s. r.}$ forró vízben, forró vizes alkoholban, különösen pyridinben könnyebben oldható; éterben, acetonban és benzolban oldhatatlan, 6% -os pyridines, oldatban forgatótehetsége $[\alpha]_D = +26.66^{\circ}$.

Mannóz-phenyloszazon = glükóz-phenyloszazon.

d-galaktóz.

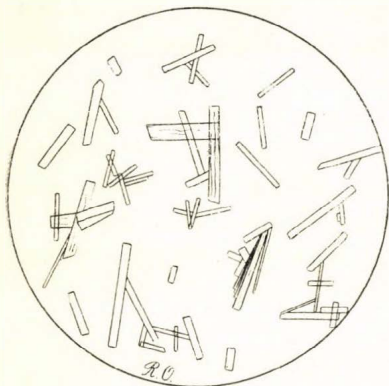
$C_6H_{12}O_6$.



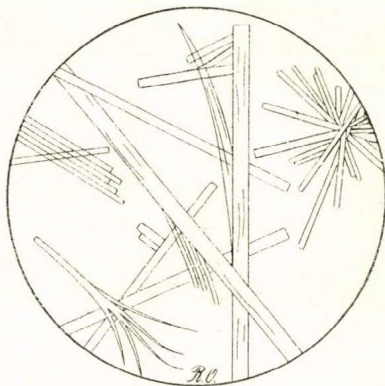
Nem bizonyos, hogy a természetben előfordul. Anhydrid-alakban nagyon elterjedt a növényvilág ú. n. galaktanjaiban, azonkívül hidrolizis-terméke a tejcukornak, melibióznak, raffinóznak stb. Előállítható, ha tejcukrot savak jelenlétében hidrolizálunk. E végett tejcukrot (2 kg.) 10 liter vízzel és 100 g. kénsavval 4 óra hosszat főzünk, az oldatot

baryumcarbonáttal telítjük és a szüredéket a *Saccharomyces Ludwigi* nevű élesztőgombával erjedésnek indítjuk. Ez a glükózt rövid időn belül (1—2 nap alatt) teljesen megerjeszti, míg a galaktózt úgyszólván érintetlenül hagyja. A besűrített és alkohollal proteintól mentessé tett folyadékból hosszabb állás után bőven kristályosodik ki a galaktóz.

Vízből kristályvíztartalmú prizmák, vagy tűk alakjában, alkoholból kristályvíztől mentes táblákban válik ki. A kristályvíztartalmú kristályok olvadáspontja $118-120^{\circ}$, az anhydridé $160-170^{\circ}$. Vízben nagyon könnyen, alkoholban nehezen oldható. A vizes oldatán multiritációt észlelhetünk, forgatótehetsége állandó, értéke is nagyon ingadozik az oldat koncentrációja és a hőmérséklet szerint. Ha p jelenti az oldat



24. rajz. Nyálkasavkristályok.



25. rajz. Galaktózphenyloszazonkristályok.

galaktóztartalmát százalékokban, t pedig a hőmérsékletet: akkor a forgatótehetséget a következő függvény alapján számíthatjuk ki:

$$[\alpha]_D = +83.883 + 0.0785 p - 0.209 t.$$

Nátriumamalgammal dulcittá $C_6H_{14}O_6$ redukálódik, brómmal oxidálva, d -galaktonsavat $C_6H_{12}O_7$ létesít. Salétromsav hatására keletkezik a kétbázisú nyálkasav ($C_6H_{10}O_8$).

Utóbbi reakció a galaktóz felismerése, sőt mennyiségi meghatározására is alkalmas. E végett a terméket 1.15 fajsúlyú salétromsavval vízfürdőn, keverés közben bepárolgatjuk. Nemsokára megkezdődik a nyálkasav kiválása, mely 24 órai állás után teljes lesz. A csapadék leszívása után a nyálkasavat úgy tisztítjuk meg, hogy a kiszámított mennyiségű normális nátriumhydroxidban oldjuk fel, azután ismét a kiszámított mennyiségű sósavval, hidegen kicsapjuk. Ezeket a műveleteket nagy gonddal kell végezni, mert a könnyen oldható normális nátriumsó nátriumhydroxid fölöslegében nehezen oldható, továbbá a savanyú só is nehezen oldható. A nyálkasav kristályainak mikroszkóppal látható képét a 24. rajz mutatja.

Jellemző a galaktózra methylphenylhydrazonja, továbbá az oszazonja. Mennyiségi meghatározásoknál, ha egyéb cukor nincs jelen, a Fehling-féle oldattal titrálhatjuk. 50 cm³ Fehling-féle oldatból 0.2606 g. galaktóz választ le minden rezet cuprooxid alakjában.

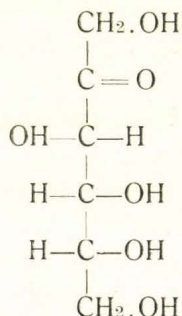
Fontosabb származékai:

Pentaacetyl-galaktóz. C₆H₇(C₂H₃O)₅O₆. Ugyanolyan körülmények között keletkezik, mint a β-pentaacetyl-glükóz. Alkoholból rhombos prizmákban kristályosodik. Olvadáspontja 142°. Könnyen oldódik benzolban, chloroformban, jégecetben, kevésbé alkoholban, éterben és vízben, nagyon nehezen oldódik ligroinban és széndisulfidban. Forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +7.48^\circ$.

Galaktóz-α-methylphenylhydrazon. Színtelen tűkben válik ki. Olvadáspontja 191°. Oldódik methylalkoholban, kevésbé vízben és alkoholban. A galaktóz leválasztására nagyon alkalmas.

Galaktóz-phenyloszazon. C₁₈H₂₂N₄O₄. Sárga tűkben válik ki, melyek 186° körül olvadnak. A kristályok mikroszkóppal látható képét a 25. rajz mutatja. Oldható 60%-os alkoholban, kissé oldódik forró vízben, alkoholban, oldhatatlan éterben, benzolban és chloroformban. Ha 0.2 g. oszazont 4 cm³ pyridin és 6 cm³ alkohol elegyében oldjuk, az oldat 1 dm.-es csőben +0.48'-nyi forgatótehetséget mutat.

d'-fruktóz (laevulóz, gyümölcscukor).



A fruktóz nagyon gyakori a növényvilágban és legtöbbször d-glükóz mellett invertcukor alakjában található. Fruktózból keletkezett polysaccharidok szintén nagyon elterjedtek. Ezek között legfontosabb az inulin, mely a növények egyes csoportjánál éppen olyan fontos mint tartaléktáplálék, akárcsak a keményítő. Előállítása céljából is legcélszerűbb az inulinból indulni ki, melyből 100 g.-ot 250 g. vízzel és 0.5 g. sósavval, 30 perczig főzünk vízfürdőben. Most 1.5 g.-nyi nátrium-carbonáttal telítve az oldatot, vákuumban bepárologatjuk, a maradékot

alkohollal kifőzzük, az oldatot besűrítjük és fruktózkristályokkal beoltjuk. Hosszabb állás után kikristályosodik a fruktóz.

Selyemfényű rhombos tűkben, vagy gömbös kristályhalmazokban válik ki. Olvadáspontja $95-105^{\circ}$. A vizes oldatból hosszabb állás után hidrat kristályosodik ki: $(C_6H_{12}O_6)_2 + H_2O$. Könnyen oldódik vízben, glicerinen, meleg alkoholban és methyllalkoholban, továbbá forró

acetonban. $[\alpha]_D^{20}$ $2\frac{1}{2}$ százalékos fruktóz oldatnál $= -92.17^{\circ}$; 10% oldatnál $= -93^{\circ}$. Minden foknyi hőemelkedésnél $+0.70^{\circ}$ -kal nagyobb a forgatótehetség. Multirotációja nem nagyon nagy, a frissen készült hideg oldat forgatótehetsége $[\alpha]_D = -104^{\circ}$, és ammonia jelenlétében nem észlelhető. Nátriumamalgam *d*-szorbittá és *d*-mannittá redukálja.

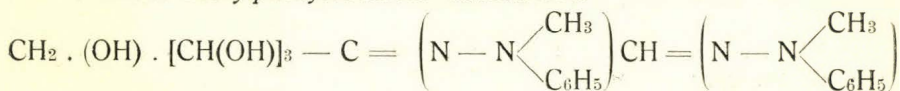
Salétromsavval, vagy brómmal oxidálva, a fruktóz molekulája szétbomlik és hangyasav, oxálsav, glykolsav, szőlősav stb. keletkezik. Éteres oldatban hidrogénbromid brommethyلفurólt létesít, mely reakció a ketóncsoport jelenlétével van összefüggésben. Higított savak laevulinsavat, furólt, hangyasavat stb. eredményeznek.

Felismerésére alkalmas a phenyloszazon, mely egyenlő a glükózéval vagy a mannózéval, továbbá a methylphenyl-oszazon. A fruktóz olyan oldatot, melyben 12 g. glükokoll, 6 g. cuprihydroxid és 50 g. kálium-carbonát van, hidegen 12 óra elteltével redukál. Pieraerts szerint a glükóz ezt a reakciót nem mutatja. Fruktóz jelenlétét a Seliwanoff-féle reakcióval is kimutathatjuk, melyet az aldohexózok nem mutatnak. 2 súlyrész fruktóz, 1 súlyrész resorcinna és 1 súlyrész 1.18 fajsúlyú sósavval melegítve, eosinvörösoldatot létesít, a mi furfurolkeletkezéssel függ össze. Mennyiségi meghatározásoknál alkalmas a polarizációs, vagy a redukciós módszer, de csak abban az esetben, ha egyéb cukor a vizsgálandó oldatban nincsen.

Megközelítő meghatározására különösen olyan oldatokban, melyek glükózt is tartalmaznak, nagyon jó szolgálatokat tesz a calciumfruktozát alakban való leválasztás. E végett például a 10% -os invertcukoroldatot jégben lehűtjük és 6 g. oltott meszet keverünk hozzá. Ez eleinte feloldódik a cukoroldatban, nemsokára azonban kiválik a víztartalmú calciumfruktozát. A kristályos csapadékot kisajtoljuk, kevés hideg vízzel eldörzsöljük, újból kisajtoljuk, a vegyületet széndioxiddal elbontjuk és a szüredéket kristályosodás céljából vákuumban besűrítjük. Ezen az úton gyárilag is állítják elő a fruktózt.

Fontosabb származékai:

Fruktóz-methylphenyloszazon. $C_{20}H_{26}N_4O_4$.



0.30 g. nádcukrot tartalmaz. Ezek az oldhatósági viszonyok azonban csak a teljesen tiszta nádcukorra érvényesek, idegen anyagok jelenléte rendkívül növelheti a nádcukor oldhatóságát. 5%-os vizes oldat forgatótehetsége 20°-nál $[\alpha]_D^{20} = +66.62^\circ$ (Landolt, nagyon pontos adat). Az érték a cukoroldat töménységével változik.

Ha p az oldat nádcukortartalmát jelöli százalékban, q pedig az oldat víztartalmát százalékban, akkor bármely töménységű oldatra nézve a forgatás értékét a következő tapasztalati kifejezések segítségével számíthatjuk ki.

18–69%-os cukoroldatokra:

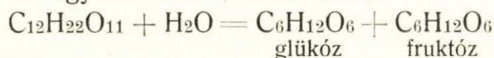
$$[\alpha]_D^{20} = +66.386 + 0.015035 p - 0.0003986 q^2$$

4–18%-os cukoroldatokra:

$$[\alpha]_D^{20} = +66.870 - 0.015553 p - 0.000052462 q^2$$

Az utóbbi képlet alapján számított értékek ugyan a Landolt-étől kissé eltérnek, azonban bátran alkalmazhatók.

Idegen anyagok jelenléte a nádcukoroldatok forgatótehetségét módosítja, különösen alkalifémhidroxidok és carbonátok szállítják le a forgatótehetséget. A Fehling-féle oldatot nem redukálja. Savak hatására könnyen hidrolizist szenved (inverzió), minek következtében d-glükóz és d-fruktóz jelennek meg, mint reakciótermékek. Az enzim hidrolízis is ugyanezekhez az egyszerű cukrokhoz vezet.



A nádcukorra jellemző vegyületek:

Oktoacetylzármazék. $C_{12}H_{14}(C_2H_3O)_8O_{11}$. Akkor keletkezik, ha 1 sr. nádcukrot 4 súlyrész eczetsavanhydriddel és 2 súlyrész víztől mentes nátriumacetáttal néhány perczig főzünk, majd a reakcióelegyet jeges vízbe keverjük, a vizet a kivált alaktalan csapadék fölött többször megújítjuk, mire az (rendesen napok múlva) kristályosan mered meg. A tömeget most 96%-os forró alkoholból kristályosítjuk át. Színtelen tűkben válik ki, melyek 67°-on olvadnak. Vízben csaknem teljesen oldhatatlan, éterben, alkoholban feloldódik. (96%-os alkoholból 10°-on feloldásához 115 súlyrész szükséges) $[\alpha]_D = +38^\circ$ megközelítő meghatározás).

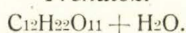
Strontium-disaccharat. $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 2 Sr O$. Forró, körülbelül 15%-os nádcukoroldatba kristályos strontiumhidroxidot keverünk. Amint annyi strontiumhidroxid oldódott fel, hogy minden molekula cukorra több mint 2 molekula strontiumhidroxid essék, megkezdődik a disaccharat kiválása és ha az oldat több mint 3 molekula strontiumvegyületet tartalmaz minden nádcukor molekulára, 8–10 percnyi főzés után majdnem a számítás szerinti termelést érjük el. Súlyos kristályos tömeg,

mely főzéskor mint a homok összegyűl az edény fenekén és jól szűrhető. Különösen lúgok jelenlétében nehezen oldható, arra való a strontium-hydroxid fölöslege, melyet különben alkalifémhydroxiddal is pótolhatunk. 84 súlyrész forró vízben oldódik. Alkoholban teljesen oldhatatlan. Cukor-, illetőleg ammoniumchlorid-tartalmú folyadékokban oldható. Már ha hideg vízzel hosszabban érintkezik, bomlik, széndioxid pedig teljesen elbontja strontiumcarbonátra és nádczukorra. A strontiumdisaccharat azért pontos, mert segítségével sok esetben a nádczukrot le lehet választani és a kísérő anyagoktól elkülöníteni.

A nádczukor kimutatására, ha csak lehet, leválasztjuk a czukrot kristályos alakban. Czukorban dús oldatoknál ez a módszer sokszor célhoz vezet, különösen akkor, ha a strontiumvegyületet hívjuk segítségül. Ha olyan csekély mennyiségekről van szó, hogy a leválasztás nem sikerül, igyekeznünk kell a vizsgálandó folyadékot híg savval hidrolizálni, illetőleg invertálni és a keletkezett bomlástermékeket redukció segítségével, vagy oszazonpróbával kimutatni. Minthogy az inverziókor keletkező két hexóz a Fehling-féle oldattal szemben egyenlően viselkedik és ugyanazt a phenyloszazont is eredményezi, a bizonyítéknak csak akkor van súlya, ha egybevág a polarimetriás vizsgálat eredményével. Nem szabad azonkívül elmulasztanunk külön reakciókkal a fruktóz jelenlétét bebizonyítani.

A nádczukor mennyiségének meghatározására legkényelmesebb a polarimetriás eljárás, melyet czélszerűen a czukor invertálása előtt és utána végezzünk. Az invertálás után keletkezett hexózoknak elerjesztése útján is pontos eredményhez juthatunk, a meghatározás azonban hosszabb időt, körülbelül 40 órát igényel.

Trehalóz.



Szerkezete nem ismeretes. Előfordul számos gombában és a trehala mannában. A czukor előállítására céljából a trehalóztartalmú nyers anyagokat kellő szétapritás után alkohollal főzzük ki. A szüredék kihülése után gyakran kikristályosodik a czukor. Ha vizes oldatokat készítünk, azokat előbb ólomacetáttal tisztítjuk, majd a szüredékből az ólmot hydrogénsulfiddal kicsapván, a megszűrt oldatot vákuumban besűrítjük, a maradékot forró alkohollal kioldjuk és e kristálytömeget többször vizes alkoholból átkristályosítjuk.

Jól kifejlődött szintelen rombos prizmákat alkot. 96—97°-on kristályvizében megolvad; 130°-nál elveszti kristályvizét, ismét megszilárdul és másodszor bomlás közben 200° fölért olvad meg. 1·7 súlyrész vízben oldódik; az oldat íze édes. Forró alkoholból oldásához 100 súlyrész

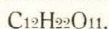
szükséges. A víztartalmú anyag forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +178^0$ (olyan vizes oldatban, melynek koncentrációja 7·2820); az anhydrid forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +197-200^0$. Híg savakkal főzve d-glükózt eredményez, az inverzió azonban sokkal lassabban (5%-os kénsavval, 6 óra hosszat tartó főzés után) megy végbe, mint a nádcukornál.

A Fehling-féle oldatot nem redukálja és phenylhydrazinnal oszazont nem létesít.

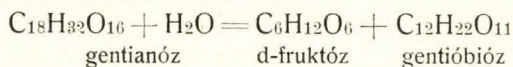
Jellemző vegyületei:

Oktaacetyl-származék. $C_{12}H_{14}O_3(C_2H_3O_2)_8$. Keletkező körülményei ugyanazok, mint a melyeket a nádcukor hasonló származékainál leírtam. Színtelen kristályok, melyek 97^0 -on olvadnak.

Gentiobióz.

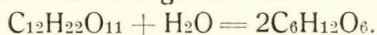


A gentianóz részleges hidrolizisének keletkezik invertáz, vagy nagyon gyenge sav hatására d-fruktóz mellett:



Előállítására felhasználjuk a kereskedésbeli, gentiana-gyökér porát, melyben az eredetileg jelenlevő gentianóz, a hosszabb állás után, részben már az egyenletben leírt átalakuláson keresztül ment. A gyökér porának kolloidális vashydroxiddal tisztított vizes kivonatát felső erjedésű élesztővel elerjesztjük, miközben a gentiobióz nem változik, majd a calcium-carbonáttal közömbösített szüredéket csontszénnel színtelenítve, vákuumban besűrítjük, a maradékot előbb 85%-os, majd 95%-os forró alkohollal kioldjuk s az egyesített alkoholos oldatokat, besűrítés után állni hagyjuk. Hosszabb állás után kikristályosodik a gentiobióz, melyet alkohollal való mosás után vizes alkoholból átkristályosítunk.

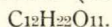
190—195⁰-on olvadó kristályok válnak ki, melyek feloldás után közvetlenül $[\alpha]_D^{20} = +9\cdot6^0$ -nyi forgatótehetséget mutatnak. A forgatás szöge változik. Methylalkoholból methylalkoholtartalmú kristályok válnak ki, melyek 85·5—86⁰-on olvadnak, kristályalkoholjukat elvesztik, a tömeg azután ismét megszilárdul és 189—195⁰-on olvad meg újból. A methylalkoholtartalmú kristályok rendkívül keserű ízűek, forgatótehetségük vizes oldatban, melynek koncentrációja: 4, $[\alpha]_D^{20} = +8\cdot33^0$. Vizes oldata a Fehling-féle oldatot redukálja és phenylhydrazinnal oszazont is létesít. Redukáló ereje körülbelül olyan, mint a maltózé. Savakkal és enzimekkel hidrolizálva a gentiobiózból a d-glükóz lesz.



Jellemző vegyületei:

Gentiobiózphenyloszazon. Olvadáspontja $160-170^{\circ}$.

Czellobióz (Cellóz).



A természetben eddig nem találták meg. A cellulóz részleges hidrolizisekor keletkezik és olyan viszonyban áll a cellulózhoz, mint a maltóz a keményítőhöz. Előállításához 60 g. apró darabokra tépett szűrőpapirosra 240 cm^3 eczetsavanhydridnek és 32 cm^3 koncentrált kénsavnak olyan elegyét öntjük, mely -15° -ra van lehűtve és gondoskodunk róla, hogy a két folyadék összekeverésekor, a hőmérséklet ne emelkedjék 25° fölé. A tömeget most erősen rázzuk és a meglehetősen heves reakciót úgy szabályozzuk, hogy a hőmérséklet 105° -nál több ne legyen. A kissé lehűtött barnászörös folyadékot vékony sugárban, körülbelül 5 liter hideg vízbe öntjük s a csapadék felett a vizet többször megújítjuk. A tömeg nemsokára kristályosan merevedik meg. A csapadékot leszűrjük, kisajtoljuk és alkoholból átkristályosítjuk. Így eljutunk az *octaacetylcellobiózhoz*, $\text{C}_{12}\text{H}_{14}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O})_8\text{O}_{11}$, mely 228° -on olvad, alkoholban, eczetéterben nehezen, chloroformban könnyen oldódik. Forgatótehetsége $[\alpha]_D = +42^{\circ}$. Az octaacetylszármazékot alkoholban szétosztjuk és turbinával folytonosan keverve, a számított mennyiségű alkoholos káliumhydroxiddal átalakítjuk, mire a cukornak az alkoholban nehezen oldható káliumvegyülete válik ki. Ezt lehetőleg kevés vízben oldjuk, eczetsavval közömbösítjük, vákuumban besűrítjük és alkohollal elegyítjük. Hosszabb állás után a cellobióz kristályokban válik ki, melyeket vizes alkoholból átkristályosítunk. Hevítéskor 180° -on megsárgul, 225° -on barnulás közben elbomlik. Körülbelül 12 súlyrész vízben oldódik, íze nagyon gyengén édes. Alkoholban és éterben oldhatatlan. A végső állandó forgatóképesség a feloldás után 15 órával $[\alpha]_D^{20} = +33.7^{\circ}$. A Fehling-féle oldatot redukálja. 1 g. cellobióz redukál 153 cm^3 Fehling-féle oldatot. Savakkal és enzimekkel hidrolizálva, 2 molekula d-glükózra bomlik.

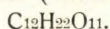
Jellemző vegyületei:

Octaacetylcellobióz (lásd fönt).

Cellobiózphenyloszazon. $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_9$.

1 súlyrész cukornak 2 súlyrész phenylhydrazinchlorhydráttal és 3 súlyrész nátriumacetáttal való főzésekor keletkezik. Sárga tűk, melyek 198° -on olvadnak. Körülbelül 110 súlyrész forró vízben, alkoholban pedig könnyen oldódik.

Cellobioszon. Úgy állítható elő a cellobioszazonból, benzaldehyd segítségével, mint a maltoszon (lásd ott).

Máltóz (máltobióz).

A maltóz a növényvilágban úgy látszik meglehetősen el van terjedve, eddig azonban kevés esetben választották le kristályos állapotban, mert tisztítása és a többi cukortól való elválasztása meglehetősen körülményes. A növényekben gyakran megjelenik a keményítő hidrolizisének közbeeső termékeképpen csirázási, rügyfakadási stb. folyamatoknál, mikor rendesen tovább bomlik glükózzá. A kereskedésbeli keményítőből készült cukor-szirupokban 15—48% maltóz van jelen.

Képződik reverziós enzimreakció következtében Armstrong szerint glükózból emulzin hatására. A keményítő diasztázos hidrolizisének végterméke maltóz és előállítás is ezen az úton történik.

E célból Soxhlet előírása szerint 2 kg. keményítőt 9 liter hideg vízben jól felkeverünk, vízfürdőn a keményítőt csirizzé alakítjuk és ha a hőmérséklet 60—65°-ra süllyedt, 120—140 g. levegőn száradt malátának 40°-on készült vizes oldatával elegyítjük. A tömeget 60°-on 1 óra hosszat hagyjuk állni, azután felforraljuk, forrón szűrjük és vákuumban sziruppá sűrítjük be. Ezt többször egymásután 90°-os alkohollal, végül kisebb részletét abszolút alkohollal főzzük ki. Az utóbbi oldatot sziruppá sűrítjük be, mire nemsokára tisztátalan maltóz kristályosodik ki belőle. Ezalatt a 90°-os alkohololdatokat is besűrítjük, a nyers kristályokat beleoltjuk és gyakori felkeverés közben állni hagyjuk. 3—5 nap múlva a tömeg kristálytömeggé mered meg. A kristályokat methyllalkohollal mossuk, leszűrjük és kisajtoljuk. A tömegből most 100 g. 24 cm³ forró vízben oldunk, 600 cm³ methyllalkohollal elegyítjük, felforraljuk, forrón szűrjük, majd állni hagyjuk. Nemsokára jól kifejlett kristályokban válik ki a disaccharid.

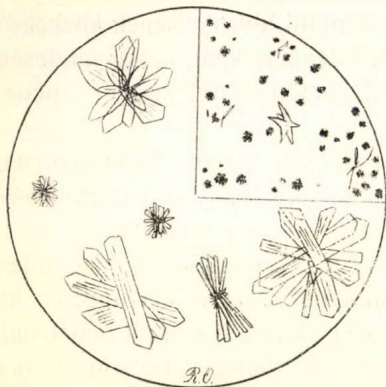
A maltóz egy molekula vizet tartalmazó hidrátja $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \text{H}_2\text{O}$ fehér tűkben kristályosodik. Kristályvizét nehezen és bomlás közben veszti el. Könnyen oldható vízben, kevésbbé methyllalkoholban és forró alkoholban. Oldhatósága alkoholban kisebb, mint a glükózé. A maltóz anhydridje üvegszerű, alaktalan, nedvszívó. Olyan vizes oldat, melynek súlyszázaléktartalma víztől mentes maltózra számítva p , és hőmérséklete t , a $p = 5—35$ és $t = 15—35^\circ$ határok között a következő forgatótehetséget mutatja:

$$[\alpha]_D = +140.375 - 0.01837 p - 0.095 t.$$

A normális forgatótehetség átlagos értékben $[\alpha]_D^{20} = +137.5$. Frissen készült oldatoknak néhány óra hosszáig birotációja van. Híg ammoniaoldat a birotációra csekély hatással van, míg koncentrált oldatban tetemesen megváltozik a forgatótehetség. Brómmal oxidálva, maltobionsav $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$ keletkezik. Lúgok, különösen melegítés alkalmával, hamar elbontják a

czukrot. Savak jelenlétében glükózzá alakul; ugyanily bomlást idéz elő a máltáz enzim is.

A máltóz minőségi kimutatására nincsenek olyan reakciók, melyek csakis a máltózra volnának jellemzők. Ha 0·5—0·7 g. máltózt 10 cm^3 10%-os ammoniában oldunk és a próbát olyan forró vízfürdőbe helyezzük, mely alatt a lámpát éppen eloltottuk. 10—15 perc múlva buzérvörös színű lesz az oldat. A máltóz a glükózzal ellentétben a rézacetát oldatát nem redukálja. Legjellemzőbb származéka a phenyloszazonja.



26. rajz. Máltoszazonkristályok.

Mennyiségi meghatározására alkalmas a forgatásszögének megállapítása; az adatoknak a redukciós módszer segítségével talált értékekkel összhangzásban kell lenniök. Kényelmes a máltózt is élesztővel

megerjeszteni és a keletkezett széndioxidot térfogati úton meghatározni. Az erjedés 20 óra hosszat tart.

Fontosabb származékai:

Octaacetyl-máltóz. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O})_8\text{O}_{11}$. Keletkezik, ha 1 súlyrész máltózt 3 súlyrész eczetsavanhydriddel és 1 súlyrész víztől mentes nátriumacetáttal néhány perczig főzünk. Rhombos prizmákban válik ki. Olvadáspontja $157\text{--}159^\circ$. Vízben oldhatatlan, oldódik forró alkoholban, éterben, benzolban és eczetsavban. Forgatótehetsége benzolos oldatban 0·1996 koncentráció mellett $[\alpha]_D = +77\cdot6^\circ$.

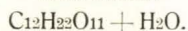
Máltózphenyloszazon. $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_9$. Világossárga tűkben kristályosodik, melyeknek képét a 26. rajz mutatja.

Olvadáspontja $202\text{--}208^\circ$. Oldódik 80—100 súlyrész forró vízben. A vizes oldatból kiváló kristályai 5—8% kristályvizet tartalmaznak. 0·2 g. 4 cm^3 pyridin és 6 cm^3 alkohol elegyében oldva 1 cm^3 -es csőben a forgatótehetsége: $[\alpha]_D = +1^\circ 30'$.

Máltoszon. 1 súlyrész máltózphenyloszazont 80—100 súlyrész forró vízben oldunk és 0,8 súlyrész benzaldehyydel rázunk, vagy nagyobb mennyiségek feldolgozásakor erélyesen működő turbinával, forralás közben a tömeget gyorsan kavargatjuk. 20 g. oszazon feldolgozásánál a reakció 20—30 perc alatt be van fejezve. Kisebb mennyiségek átalakulása gyorsabb. Lehűléskor a kikristályosodott benzaldehydphenylhydrazont leszűrjük s az oldatot a benzaldehyd eltávolítása céljából több ízben kioldjuk éterrel. A vizes oldatot vérszénnel színtelenítjük,

vákuumban besűrítjük, mikor üvegszerű, alaktalan anyagként marad vissza az oszon. Vizes oldata phenylhydrazinacetáttal, szobahőmérsékleten, néhány percz múlva, máltoszazonból álló csapadékot keletkeztet. A termelés 70⁰/₀.

Izomáltóz.



Izomáltóznak Fischer Emil a glükózból tömény sósav hatására, kondenzáció útján keletkező disaccharidot nevezte. Későbbi szerzők biztosan állították, hogy a keményítő hidrolizisének termékei között is jelen van. Úgyszólván minden pozitív adatnak czáfolata is megtalálható az irodalomban úgy, hogy a keményítőhidrolizisnél az izomáltóz keletkezése még eldöntetlen. Az állatvilágban is sokszor említik az izomáltózt, mint a glükogén hidrolizistermékét. Talán a normális vizeletben is előfordul.

Armstrong szerint glükózból, a máltóz reverziós enzimhatása következtében, izomáltóz keletkezik szobahőmérsékleten néhány hónapi állás után.

A Fischer-féle izomáltózt úgy állítjuk elő, hogy 100 g. glükózt 400 g. hideg füstölő sósavban oldunk, a tömeget 10—15⁰-on 15 óra hosszat állani hagyjuk, majd 4 kg. abszolút alkohollal elegyítjük, a keletkezett csapadékot leszűrjük s a szüredéket étterrel elegyítjük. A most kiváló tömeget étterrel mossuk, kisajtoljuk, vízben oldjuk, az oldatot nátriumcarbonáttal közömbösítjük, kevés ecetsavval megsavanyítjuk, az alkoholt és étert vízfürdőn elűzzük s a 30⁰-ra lehűtött folyadékot élesztővel elerjesztjük, 18 órai erjedés után a körülbelül 150 cm.-nyi folyadékot 30 g. phenylhydrazinnal és 20 g. 50⁰/₀-os ecetsavval elegyítve, 1¹/₄ óra hosszat vízfürdőn melegítjük. A csekély mennyiségű kiválat glükoszazont forrón leszűrve, a szüredékből kihüléskor az izomáltoszazon válik le mint nyers termék, 100 g. glükózból 2·5 g. izomáltoszazon keletkezik. Ha forró vízből kétszer átkristályosítjuk, meglehetősen tiszta terméket kapunk. A legutolsó átkristályosításra igen alkalmas az eczetéter, melyből a nedves oszazon 1 sr.-e 50 cm³ eczetéterben oldódik. Maga a cukor még nem ismeretes.

Az izomáltóz előállítását a keményítőnek diasztázos hidrolizise útján, később tárgyalom.

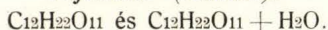
Jellemző származéka a:

Phenyl-izomáltoszazon. C₂₄H₃₂O₉N₄. Apró tűkben kristályosodó sárga gömbös halmazok. Olvadáspontja 158⁰. Oldódik 4 sr. forró vízben; alkoholban is könnyebben oldódik, mint a phenylmaltoszazon. 0·0861 g. anyag 3 cm³ alkoholban oldva, 1 dm.-es csőben, Au-e-r-fényt használva fényforrásul, 0·2⁰-nyi forgatást idéz elő jobbra. Benzaldehiddel a máltosz-

nál leírt módon *izomaltoszonná* alakítható. Ez hidroliziskor glükózra és glükoszonra bomlik.

Viselkedését az enzimekkel szemben az oszonjának tulajdonságai alapján ismerjük. A maltáz hatástalan reá, ellenben emulzin hatására hidrolizálódik. Az előbbi tény alapján érthető, hogy az izomáltóz nem erjed.

Tejczukor (Laktóz).



Valamennyi emlős állat tejében előfordul. A női tej átlag 4—6·5%, a tehéntej 4—5% tejczukrot tartalmaz. Előállításához azt a savót használják, mely akkor marad vissza, ha a sajtot oltóval választják le. A savót vákuumban besűritik és a kikristályosodott nyers tejczukrot még kétszer tisztítják.¹ 3 módosulatban ismeretes.

α -módosulat $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \text{H}_2\text{O}$. A rhombos-hemiederes (más szerzők szerint monoklin) kristályok mindig vizes oldatból válnak ki. A kristályvíz 145—150°-on csak a cukor részleges bomlása közben távozik el; 10°-on 6 sr., 100°-on 2·5 sr. vízben oldható, egyéb oldószerben, még alkoholban is oldhatatlan. Forgatótehetsége frissen készült vizes oldatban folyton csökken, míg $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +52\cdot5^\circ$ állandó értéket eléri. Optikai vizsgálat előtt az oldatokat legalább 12 óra hosszat kell állni hagyni. Ammónia jelenlétében rögtön az állandó forgatótehetség nyilvánul.

A β -módosulat összetétele Erdmann és Schmöger szerint $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; Tannert szerint $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. Keletkezik, ha tejczukor hidratát 130°-on szárítjuk, Tannert szerint pedig, ha a normális hidratát 85—86°-on kristályosítjuk, vagy ha az α -módosulat vizes oldatát alkohollal elegyítjük. A frissen készült oldat forgatószöge $[\alpha]_{\text{D}} = +55^\circ$.

A γ -módosulat akkor keletkezik, ha a hidrat vizes oldatát vízfürdőn szárazra párologtatjuk be, vagy ha a bepárologtatást 108°-on végezzük és a tömeget kénsav fölött megszáritjuk.

Az apró kristályok vízben oldva könnyen átalakulnak normális hydráttá. Az oldat forgatótehetsége kezdetben $[\alpha]_{\text{D}} = +34\cdot50$. Íze nem olyan édes, mint a nádcukoré. A tejczukor híg savakkal, vagy enzimekkel végzett hidrolízis alkalmával 1 molekula d-glukózra és 1 molekula d-galaktózra bomlik. A Fehling-féle oldatot redukálja; 0·5 g. tejczukor 74 cm³ Fehling-féle oldatból választja le az összes rezet cuprooxid alakjában.

A tejczukrot olyan élesztő fajták, melyek a laktázenzimet tartalmazták, elerjesztik; számos más esetben is észleltek tejczukrot hidrolizáló enzimeket. A tejsavas, vajsavas és a nyálkás erjedésre is könnyen hajlandó a tejczukor.

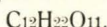
¹ A tejczukor előállítására vonatkozólag lásd bővebben Kosutány Tamás, A mezőgazdasági kémiai technológia alapelvei 100—104. lapjait.

Fontosabb származékai.

Oktaacetyl-laktóz. $C_{12}H_{14}(C_2H_3O)_8O_{11}$. 5 g. tejczukrot 20 g. eczetsavanhydriddel és 5 g. víztől mentes nátriumacetáttal visszacsepegő hűtővel felszerelt lombikban rázunk, mire nemsokára minden melegítés nélkül beáll a reakció. A mint a cukor teljesen feloldódott, a tömeget hideg vízbe öntjük és megmerevedése után alkoholból átkristályosítjuk. Olvadáspontja $85-90^\circ$. 10% -os chloroformoldatban forгатótehetsége $[\alpha]_D = -3.5^\circ$.

Laktóz-phenyloszazon. Mikroszkópos prizmákból alkotott gömbös halmazok, melyek 200° -on kezdenek összeomlani és $210-212^\circ$ -on olvadnak meg teljesen. Alkoholban és eczetsavban könnyen oldódik. Eczetsavas oldatban balra forгат, pyridin és alkohol elegyében feloldva, optikailag hatástalan. Nagyon híg kénsavval (1 g. 20% -os kénsav 1 liter folyadékban) vízfürdőn 1--2 óra hosszat főzve, anhydriddé $C_{24}H_{30}O_8N_4$ alakul át, mely forró vízben csaknem teljesen oldhatatlan és $223-224^\circ$ -on gázfejlődés és bomlás közben olvad.

Laktoszon. Úgy létesíthető, mint a máltoszon.

Melibióz (galaktozidó-glükóz).¹

Részleges hidrolízis útján keletkezik a raffinózból, mely a következő egyenlet szerint $C_{18}H_{32}O_{16} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{12}H_{22}O_{11}$ d-fruktózára és melibiózra bomlik. E célból 100 g. raffinózt 1300 g. vízben oldunk, az oldatot felfőzéssel fertőtlenítjük és 150 g. felső erjedésű élesztővel hagyjuk 31° -on állani egy napig. A felső erjedésű élesztőben enzim van, mely a fent jelzett reakciót idézi elő. A képződött fruktóz egyszersmind elerjed. Most 50 g. élesztőt keverve újból a tömeghez, több napig hagyjuk azt ismét erjedni. A zavaros folyadékot a proteinek kiválasztása céljából felfőzzük, néhány perczig vérszénnel forraljuk és a szüredéket vákuumban besűrítjük, majd pedig alkohollal elegyítjük. Hosszabb állás után a tömeg kristályosan megmered. A nyers terméket kevés vízben oldjuk, annyi alkohollal elegyítjük, a mennyi elég, hogy zavarodás álljon elő és ismét állani hagyjuk, mikor a melibióz kristályokban válik ki. Termelés 32 g.

A melibióz eddig az egyetlen természetes disaccharid, melynek szintézise glükózból és acetochlorgalaktozból valószínűleg sikerült.¹

Igaz, hogy a reakcióelegyből a melibiózt nem lehet leválasztani és az azonosság kimutatására az oszazon és a belőle előállított oszonnak tulajdonságai szolgáltak.

¹ Emil Fischer und E. F. Armstrong, Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft 35. 3144. (1902).

Monoklin kristályok, melyeknek összetétele $C_{12}H_{22}O_{11} + 2H_2O$. 84—85°-on tökéletlenül megolvad, 120—125°-on gőzök szállnak el belőle, miközben a kristályvíz eltávozik, végül 175—190° között ismét megolvad. A kénsav fölött víztartalmuktól megfosztott kristályok olvadáspontja 93—95°. Vízben nagyon könnyen (szobahőmérsékleten 0.42 sr.-ben), methylalkoholban könnyen (7 sr.-ben), alkoholban kevésbé oldható.

Forgatótehetsége vizes oldatban $[\alpha]_D^{20} = +129.5^\circ$, a víztől mentes anyagé $[\alpha]_D^{20} = +143^\circ$. Frissen készült vizes oldatokban multitrotáció észlelhető. A melibióz a Fehling-féle oldatot redukálja, még pedig 25 cm³ vizes oldat, mely 0.2450, 0.1468, 0.0583, illetőleg 0.0364 g. kristályos melibiózt tartalmaz, 4 percznyi forralás után 50 cm³ Fehling-féle oldatból 0.2350, 0.1450, 0.0600, illetőleg 0.0378 g. rezet választ le cuprooxid alakjában. Savakkal a többi disaccharidhoz képest nagyon lassan d-glükózra és d-galaktózra bomlik; az enzimes hidrolízis is ugyanezeket a termékeket létesíti.

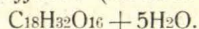
A melibióz fontosabb származékai:

Octaacetylmelibióz. $C_{12}H_{14}(C_2H_3O)_8O_{11}$. Akkor keletkezik, ha melibiózt eczetsavanhydriddal és nátriumacetáttal főzünk. Alkoholból 171°-on olvadó tűk alakjában kristályosodik. Oldódik chloroformban, jégcetben, benzolban, meglehetősen oldódik éterben, nagyon kevésbé vízben, szén-disulfidban és ligroinban. Chloroformos oldatban forralótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +98^\circ$.

Melibióz-phenyloszazon. $C_{24}H_{32}N_4O_9$. Forró vízből citromsárga mikroszkópos kristályokból álló pelyhek alakjában válik ki, forró toluolból apró tűkben kristályosodik, melyek 176—178°-on olvadnak. Feloldásához 110 sr. forró víz szükséges. Methylalkoholban, pyridinben, acetonban nagyon könnyen oldódik s az oldat kihülésekor csak nehezen válik ki újra. Nehezebben oldható eczetéterben, még nehezebben chloroformban, benzolban, toluolban, mely utóbbi oldatokból kihüléskor kristályosan válik ki. Éterben, ligroinban úgyszólván oldhatatlan. Oszonná való átalakulása éppen úgy történik, mint a többi forró vízben oldható oszazoné (lásd máltóznál).

Trisaccharidok.

Raffinóz (melitrióz).

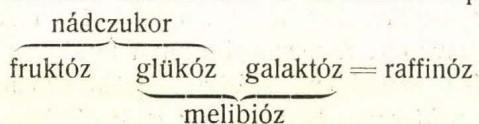


Előfordul az eucalyptus-mannában (2—3%), a búzában, árpában és számos más növényben. A czukorrépában 0.02% raffinóz van. Ez a csekély mennyiség azonban az anyalúgokban felszaporodik, úgy hogy a melászbán már legtöbb esetben 2—3% raffinóz van. Ha a melászt a

czukor kiválasztása céljából a strontiumeljárás szerint dolgozzák fel, a szirupmaradékokban 16%-ra szaporodik a raffinóz. Az ilyen maradékokat jól fel lehet használni a raffinóz előállítására. A tömeget, melyben raffinóz meg nádcukor van, methylalkohollal elegyítik, mely a raffinózt könnyen, a nádcukrot pedig sokkal nehezebben oldja. Ezen az úton olyan raffinózban dús szirupokhoz lehet jutni, melyekből a raffinóz hosszabb állás után kikristályosodik. Egy másik módszer szintén jó eredménnyel alkalmazható. A hígított melászt fölös ólomacetátoldattal elegyítik, a szüredékből ammóniával a raffinóz legnagyobb részét kicsapják, a csapadékot széndioxiddal elbontják, a szüredéket besűritik, a maradékot methylalkoholban oldják, ismét széndioxidot hajtanak bele, azután a megszárt folyadékot, a methylalkoholt ledesztillálják s a maradékot még melegen annyi alkohollal elegyítik, hogy állandó zavarodás származzék. A forró szüredékből, különösen ha a czukorszirupot raffinózkristályokkal beoltják, kikristályosodik a raffinóz.

A raffinóz színtelen tűkben, vagy nagy monoklin prizmákban kristályosodik. Olvadáspontja 80° . Meleg vízben a raffinóz könnyebben oldódik, mint a nádcukor, hideg vízben nehezebben. Túltelített oldatok nagyon könnyen állnak elő, melyekből azután hosszabb állás után válik ki a raffinóz fölöslege. Az oldatok nem édes ízűek. 100 cm^3 methylalkohol közönséges hőmérsékleten 9.5 g. raffinózt old; alkoholban nehezen oldható. Forgatótehetsége vizes oldatban $[\alpha]_D = +105^{\circ}$. $100-105^{\circ}$ -ra hevítve kristályvizét elveszti, $125-130^{\circ}$ -on megsárgul és részben elbomlik. A F e h l i n g-féle oldatot nem redukálja. Savakkal előbb fruktózra és melibiózra bomlik; a hidrolízis további folyamán a melibióz glükózt és galaktózt létesít. Enzimek hatására is végbe megy ez a bomlás, de viszont enzimekkel még olyan hidrolízist is lehet észlelni, mely savakkal egyelőre nem vihető keresztül, ez a raffinóz bomlása nádcukorra és galaktózra.

Ezeket az enzimes bomlásokat a következő képpel érzékíthetjük:



A raffinóz, a fruktóz, glükóz és galaktóz anhidridjének tekinthető. A szerint, hogy hidroliziskor a fruktóz és glükóz, vagy a glükóz és galaktóz között levő kapcsolat szakad meg, a nádcukor, vagy a melibióz létesül. Az előbbi folyamatot az emulzin (helyesebben egy benne levő β -raffináz enzim), a másodikat pl. a felső erjesztésű élesztőben előforduló enzim (az α -raffináz) idézi elő.

A raffinóz kimutatására, ha lehet, leválasztjuk a czukrot kristályalakban. Ha ez nem sikerül, a szirupot elerjesztjük felső erjedésű élesztővel.

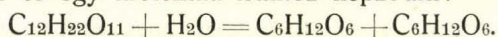
tővel és kimutatjuk az erjedés után jelen levő melibiózt oszazonja alakjában. Egy másik módszer azon alapszik, hogy a trisaccharid salétromsavval oxidálva egyéb termékek mellett nyálkasavat is keletkeztet, mely a galaktóznak, mint a raffinóz egyik hidrolizistermékének jelenlétét bizonyítja. Mennyiségi meghatározásoknál használható a polarizációs eljárás, más esetben meghatározzuk a salétromsavval való oxidálás után létesült nyálkasav mennyiségét. Nádcukoroldatok raffinóztartalmát legkönnyebben úgy tudhatjuk meg, ha az oldatot emulzin hatásának tesszük ki és megvizsgáljuk, hogy keletkezik-e galaktóz, mit az oldat redukálható sajátsága árul el.

Alsó erjedésű élesztő a raffinózt teljesen hidrolizálja és elerjeszti. Felső erjedésű élesztő fruktózt és maltózt létesít, a fruktóz pedig mindjárt el is erjed. A raffinóz tejsavas, vajsavas és oxidációs erjedésnek is indulhat.

Invertáz.

(Egyéb neve *invertin*, *szükráz*, *saccharáz*.)

Az invertáz a nádcukrot (saccharózt) olyképpen bontja el a víz elemeinek hozzájárulásával, hogy minden molekula nádcukorból egy molekula glükóz és egy molekula fruktóz képződik:



Mint hogy a fruktóz erősebben forogat balra, mint a glükóz jobbra, a nádcukornak bekövetkezett hidrolizisét arról ismerhetjük fel poláros fény segítségével, hogy az eredetileg pozitív forgatás egyre csökken, végre negatívvá lesz. Ezt a jelenséget *Dubrunfa* ut észlelte először a nádcukornak savak hatására végbemenő hidrolizisénél és inverziónak nevezte el. Azt az enzimet tehát, mely ugyanilyen inverziót idéz elő, jogosan és helyesen nevezték el invertáznak.

Az invertáz a növény- és az állatvilágban rendkívül elterjedt. Csaknem valamennyi élesztőgombában kimutatták jelenlétét; az alsóerjedésű élesztőnek invertáztartalma nagyobb, mint a felsőerjedésűé. Számos penészgomba (*Aspergillus* *Mucor* stb. fajok) és baktérium testében szintén keletkezik invertáz. A magasabbrangú növények legkülönbözőbb részeiben meglelték: levelekben, szárban, gyökerekben, magokban, az érett pollenben, a nektárban. Nagyon sok gyümölcsben, a szőlőtőkének bármely próbájában van invertáz. A növények háztartásában az invertáznak bizonyára fontos szerepe van; ez kivülálgik abból, hogy a növények nedvében gyakran keletkezik nádcukor, melyet csak úgy tud a növény értékesíteni, ha már a disaccharid inverziója végbement. A czukorrépa anaerob lélekezése közben azt a glükózt (csekélyebb mértékben a fruktózt) erjeszti el, mely a nádcukorból az invertáz hatására létesül.¹

¹ I. Stoklasa, I. Jelinek és E. Vitek. *Beiträge z. chem. Physiol. u. Patholog.*, **3**, 460—509. (1903).

Tengeri csillagok, sünök, (Toxopneustes) és Holothuriák bélcsatornája, a kerti csiga hepatopankreasza, több Crustacea emésztőnedve nádcukoroldatot invertál. A méh nyálában, a mézben, számos rovar bélcsatornájában fontos szerepet visz az invertáz, mint olyan enzim, mely a nádcukrot az állat számára értékesíthetővé teszi. Az ember vékonybelének különösen felső részlete szintén választ el invertázt. Kutyák vérsavója normális körülmények között a nádcukorra hatástalan; nádcukor- és tejcukorbefecskendezések után azonban megjelenik az állatok vérsavójában az invertáz.

Invertáz előállítása.

Invertázoldat Bertrand szerint úgy készül, hogy 20 g. kereskedésbeli kisajtolt élesztőt 10—15 g. finom, kimosott homokkal jól eldörzsölünk, miközben részletekben 5 cm³ vizet keverünk a tömeghez. A teljesen egynemű pépet most apródonként 40 cm³ vízzel hígítjuk és gyakori felkeverés közben 1/2 óráig állni hagyjuk. A keverék centrifugálása után többé-kevésbé átlátszó folyadék keletkezik. Az opálizálás foka a jelenlevő glükogén mennyiségétől függ.

Tisztább invertázoldat készítésére szintén legalkalmasabb alsó-erjedésű élesztő, melyet eleinte kútvízzel, majd desztillált vízzel jól kimosunk, végül kisajtolunk. A kimosás úgy történik, hogy az élesztőt sok vízzel addig rázzuk, míg az edény fenekén élesztőcsomók már nem látszanak.

A kisajtolt élesztőt egyenlő mennyiségű 15⁰-os vízzel keverjük el és 5 perczig hagyjuk gyakori rázás közben jégsezekrényben állani, azután megszűrjük. Az átlátszó szüredéket súlyának 1/4-részeivel egyenlő mennyiségű kaolinnal rázzuk és újra megszűrjük. A kaolin a folyadékban oldott proteintermészetű anyagokat kicsapja, míg az invertázt nem adszorbeálja. A sárgás, átlátszó oldat toluóllal összerázva, jégsezekrényben tartandó el.

Ha ezt az invertázoldatot 1 óra hosszat 52⁰-ra melegítjük, csekély mennyiségű csapadék válik ki belőle; egyúttal az oldat invertáló hatása kissé csökken. A folyadék, megszűrése után mégis alkalmasabb, különösen optikai vizsgálatokra, mert a reakció-elegyen később nem áll elő többé zavarodás.

Száraz invertáz-készítmény előállítására legcélszerűbb a Hafner-féle¹ eljárás. 5 kg. tiszta kisajtolt élesztőt 5 liter 95—96%-os alkohollal jól eldörzsölünk és 24 órai állás után, miközben az élesztősejteket megöltük, a tömeget vásznan leszűrjük, majd pedig 6 liter toluóltartalmú vízzel, folytonos keverés közben 2—5⁰-on 2—3 napig pállítjuk. Ilyenkor az invertáz kioldódik a sejtekből. A kioldást addig ismételjük, míg a

¹ Hafner B. Zeitschrift f. physiologische Chemie 42, 1—34. (1904).

létesített folyadék invertáz-hatást mutat. Most az egyesített szüredékeket annyi ammóniával elegyítjük, hogy annak szaga érezhető legyen, mire csapadék válik le. A szüredéket esetleg P u k a l l-féle szűrőn keresztül-szívás után, erősen csökkentett nyomás mellett, besűrítjük és a visszamaradó szirupból az invertázt alkohollal leválasztjuk. A nyersterméket alkohollal mosva, langyos vízzel eldörzsöljük és néhány órai állás után megsűrjük. A szüredéket újból ammóniával tisztítjuk, majd pedig toluól jelenlétében hosszabb dialízisnek vetjük alá, pergamentzacskóban. Közben a kezelés folytán ideiglenesen hatástalanná vált invertáz újra visszakapja hatásosságát. A folyadékot végül alkohollal kicsapjuk, alkohol, éter elegyével mossuk, leszűrjük és lehetőleg gyorsan vákuumban, kénsav fölött megszáritjuk. A termelés ugyan csekély; mindössze 3:1 g., de a készítmény nagyon hatásos.

Az invertáz felismerése és meghatározása. Az invertáz felismerése nagyon könnyű, mert a redukálásra alkalmatlan nádcukoroldat, az invertáz hatására redukálódva válik. Ezzel együtt jár a folyadék optikai viselkedésének megváltozása. Mindkét módszer mennyiségi meghatározásnak is lehet alapja. A bevezetésben az enzimhatás állandó követésénél példaképpen éppen a nádcukor invertáz-hatására végbemenő hidrolizist irtam le. Minőségi próbaképpen és a bomlástermékek mennyiségének megbecsülése céljából nagyon alkalmas az oszazonpróba is. Utóbbi esetben nem szabad elfelejteni, hogy a nádcukor maga is, ha $\frac{5}{4}$ óra hosszat phenylhydrazinchlorhydráttal és nátriumacetáttal vízfürdőn melegítjük, grammonként 0.1 g. glükoszazont szolgáltat. A nádcukor ugyanis ilyen körülmények között csekély mértékű hidrolizist szenved. Csak akkor következtethetünk tehát invertáz jelenlétére, ha a keletkezett oszazonmennyiség ennél jóval nagyobb.

Az invertáz sajátosságai.

A különféle eredetű invertázok alapsajátágaikban megegyeznek ugyan egymással, de működési feltételeik és idegen anyagokkal szemben tanúsított viselkedésük között nagy eltérések lehetnek. Az adszorpczió-analízis és az elektromos átviteli kísérletek a mellett szólnak, hogy az invertáz sav. Legbehatóbban az élesztő invertázzát tanulmányozták. Ezt disznóhólyag könnyen áteresztí, cellulózhártya azonban nem. Phenol-phtaleinra nézve közömbös oldatban porcellánszűrőn csekély veszteséggel átmegy, methylorange jelenlétében közömbösített oldatok azonban a szűrés után úgyszólván hatástalanok. Az invertáz működésére legkedvezőbb olyan oldat, melyben a hydrogeniönok koncentrációjának kitevője 4.4 és 4.6 között váltakozik.¹

¹ Sørensen S. P. L, Biochem. Zeitschr, 21, 131—304. (1909).

A közeg kémhatásának az invertáz működésére kifejtett befolyásról tájékoztatást nyújt az élesztőinvertáz vizes oldatával végzett következő kísérletsorozat:

1. *Ellenőrző próba.* 10 cm^3 20%-os nádcukoroldat + 1 cm^3 felforralt invertázoldat + 4 cm^3 víz.

2. *Közömbösoldat.* 10 cm^3 20%-os nádcukoroldat + 1 cm^3 invertázoldat + 4 cm^3 víz.

3. *Optimális savkoncentráció.* 10 cm^3 20%-os nádcukoroldat + 1 cm^3 invertázoldat + 1 cm^3 1.5%-os ecetsavoldat + 3 cm^3 víz.

4. *Savanyúoldat.* 10 cm^3 20%-os nádcukoroldat + 1 cm^3 invertázoldat + 4 cm^3 1.5%-os ecetsavoldat.

5. *Lúgosoldat.* 10 cm^3 20%-os nádcukoroldat + 1 cm^3 hatásos invertázoldat + 4 cm^3 $\frac{1}{10}$ normál nátronlúg.

6. *Semlegesoldat.* 10 cm^3 20%-os nádcukoroldat + 1 cm^3 invertázoldat + 4 cm^3 víz.

A 6. számú próbát szobahőmérsékleten tartjuk, a többi ötöt pedig 56° -os vízfürdőben állítjuk be. Egy óra elmultával megmérjük a próbák redukálótéhségét úgy, hogy megszámloljuk, hogy a próbákból hány csepp szükséges ahhoz, hogy 2 cm^3 F e h l i n g-féle oldatot elszíntelenítsen. Látjuk, hogy a cseppek száma az 1. és 5. próbánál végtelen; igen nagy a 4.-nél, kisebb a 2.-nél és legkisebb a 3.-nál. A 6-os próba redukálótéhsége kisebb, mint a 2.-é.

A kísérletből egyrészt látjuk, hogy az invertáz 56° -on hatásosabb, mint szobahőmérsékleten, másrészt azt, hogy működésére legkedvezőbb a gyengén savanyú környezet, már káros a nagyobb mennyiségű sav és legkárosabb a lúgok jelenléte.

Némely baktériumban előforduló invertáz lúgos oldatban is hatásos. Ammonium- és magnéziumsók jelenléte némelykor kedvező; lúgok, fukszin, safranin, kongóvörös, továbbá higany-sók, különösen pedig a káliumcyanid, károsak. Kolloidális ezüst már nagy hígításban megakasztja a reakciót, glicerín, carbamid, tejcukor, glükóz és fruktóz jelenléte pedig lassítja. Az alkohol hatása szintén gyenge lassítás. 48%-nyi nádcukor jelenlétében megszűnik az invertáz hatása, anélkül, hogy az enzim tönkremenne.

Mikor házinyulak bőre alá 4—10 naponként invertázkészítményt fecskendeztek, az állatok vérsavója az invertázos hidrolízis lefolyását meglassította.

Az invertáz hatása arányos az alkalmazott diásztáz mennyiségével, amint azt a következő kísérletből láthatjuk.

10—10 cm^3 20%-os nádcukoroldathoz elegyítsünk invertázoldatból annyi cm^3 -t, hogy az utóbbiak olyan viszonyban legyenek egymáshoz, mint az 1, 2, 3, 4 számok. Miután valamennyi próba térfogatát vízzel

15 cm³-re egészítettük ki, félóra ra beállítjuk a csöveket 56°-os vízfürdőbe. Most félbeszakítva a hatást az által, hogy gyengén lúgossá tesszük a próbákat, meghatározzuk redukálótéhségüket. A talált értékek nagyon közel arányosak az 1, 2, 3, 4 számokkal. A redukálótéhség meghatározása helyett kényelmesen alkalmazhatjuk az optikai módszert is, amikor az invertáz hatását 1 cm³ 1%-os mercurichloridoldat hozzáelegyítésével akasztjuk meg. De ebben az esetben nem szabad elfeledni, hogy az oldat multirotációs. Ezért a próbákat legalább 4 óra hosszat hagyjuk nyugodtan állani sötétben vagy diffúz fényben (nem napon) s csak azután állapítjuk meg forgatótéhségüket.

A nádcukor invertázos hidrolizisének reakcióját O'Sullivan és Thompson¹ vizsgálatai folytán monomolekulárisnak tekintették, melynél az egyensúlyi állandót a

$$K = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$$

képlettel lehet kifejezni. Itt A nádcukor kezdeti mennyiségét, x és t idő alatt elbomlott nádcukor mennyiségét, K pedig az egyensúlyi állandót jelenti. Ha $t_1 = 0$ és $x_1 = 0$, akkor a

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{A}{A - x}$$

képlet érvényes. Ugyanerre az eredményre jutott Hudson² is.

Henri V.³ később azt találta, hogy a hidrolizis gyorsabban megy végbe, mint azt az előbbi képlet kifejezi és tapasztalati úton a

$$K = \frac{1}{t} \ln \frac{A + x}{A - x}$$

egyenletet találta olyannak, mely a reakció sebességéről hű képet ad.

Az eltérő vélemények könnyen érthetővé válnak, ha Sørensen-nek⁴ a következő táblázatban összefoglalt vizsgálatait figyelemmel kísérik, mert látjuk, hogy a reakció időbeli lefolyása a hidrogénionok koncentrációja szerint változik. Ezt a körülményt pedig az előbbi szerzők nem méltatták figyelembe.

Az invertáz felfedezését Berthelot-nak köszönhetjük. Már előbb ismeretes volt, hogy a nádcukrot az élesztőgomba közvetlenül nem erjeszti s csak a hidrolizis termékeire, a glükózra és a fruktózra hat. Ezt a hidrolizist az élesztőben jelenlevő savaknak tudták be, így Pasteur is azt hitte, hogy a nádcukor hidrolizisét a borostyánkősav idézi elő.

¹ Journ. of the. Chem. Soc. 57, 834 (1890).

² Hudson, Journal of the American Chem. Soc. 30, 1160, 1564 (1908).

³ Zeitschrift f. physikalische Chemie 39, 194 (1902).

⁴ S. R. L. Sørensen, Biochemische Zeitschrift 21, 256—284 (1909).

Az enzim hozzátevése után lefolyó idő percekben	$p_{H^+} = 6.68$		$p_{H^+} = 6.30$		$p_{H^+} = 4.80$		$p_{H^+} = 4.40$		$p_{H^+} = 3.92$		$p_{H^+} = 3.68$	
	A t idő leteltével beállott forgató- tehetség változása fokokban x	$4343 \times K^*$	x	$4343 \times K$	x	$4343 \times K$	x	$4343 \times K$	x	$4343 \times K$	x	$4343 \times K$
2	0.25	91	0.30	94	0.41	133	0.55	131	0.54	127	—	—
17	2.45	103	2.57	115	3.37	165	3.54	155	3.44	127	1.96	39.3
32	4.24	111	4.50	130	5.57	191	5.70	168	5.30	132	2.82	26.1
47	5.57	127	5.93	148	6.96	185	7.04	180	6.54	135	3.33	18.2
62	6.58	147	6.94	148	7.66	219	7.83	183	7.34	149	3.66	15.3
92	7.75	230	7.91	128	8.27	125	8.38	36	8.21	126	4.17	11.2
122	8.28	—	8.23	—	8.37	—	8.46	—	8.49	—	4.51	4.8
182	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.78	—

$$* K = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$$

Berthelot azonban bebizonyította, hogy az inverziót nem sav okozza, amennyiben olyan élesztőkivonattal is, mely a reakció egész tartama alatt gyengén lúgos kémhatást mutatott, sikerült a nádcukrot glükózra és fruktózra bontania.

Az élesztő vizes oldatából alkohollal sikerült invertáztartalmú csapadékot állítania elő, mely természetesen még nagyon tisztátalan készítmény volt. Az enzimet „ferment glucosique inversif“ névvel jelölte. Nemsokára Béchamp az ákáczirágban és több más virágban megtalálta ugyanezt az enzimet és *zimáznak* nevezte el. Az *invertin* elnevezés Donath-tól származik (1875), melyet később *invertázra* változtattak. Az állati testben jelenlétét és fontosságát Claude Bernhard mutatta ki. Megállapította, hogy a nádcukor közvetlenül állatok vérébe fecskendezve, változatlanul kiválik a vizeletben, míg a bélcsatornába jutva kitűnő táplálóanyag. Ebből méltán lehetett arra következtetni, hogy a bélcsatornában kell a nádcukornak olyan átalakuláson keresztül mennie, mely értékét az állati szervezetre nézve növeli. Bernard azt is megállapította, hogy az átalakulás színhelye a vékonybél és hogy itt ugyanolyan hidrolizist szenved, mint az élesztőben foglalt enzim hatására.

Maltáz.

Régebben használt neve: élesztőmaltáz, maltoglükáz, glükáz. Az utóbbi név helytelen, mert nem glükózbomlást idéz elő az enzim, hanem csak a maltóz bomlási termékeképen jelentkezik glükóz.

A maltáz a maltóz diszacharidnak molekuláit bontja a víz elemeinek közreműködésével két-két molekula glükózra.

A maltáz legtöbbször a diasztázok (amylázok) kísérője. Előfordul sok élesztőfajtában: *Schyzosaccharomyces octosporus*, *Saccharomyces anomalus*, sör- és borélesztőkben, ellenben hiányzik a *Saccharomyces apiculatus*, Ludwigii, Zopfii, exiguus, Marxianusban, a kefirgumókban és a tejczukorélesztőben. Némely baktériumban és számos penészgombában ki lehetett mutatni. Az árpamalátában, a kukoricza, rizs, carex, luzula, sparganium magjainak lisztes endospermjében, a riczinusmagokban, a kukoricza- és Sorghum-levelekben, a répa, borsó és burgonya kisajtott levében megtaláljuk a maltázt. Az állatvilágban is nagyon elterjedt. Meglelték a *Tealia crassicornis* és az *Actinia mesembryanthenum* mezentériális filamentumában, néhány csiga májában, a *Cancer pagurus* rák emésztőmirigyében, az *Echinus esculentus* tengersünben és számos rovarálca bélcsatornájában. Előfordul a gerinczesek nyálában, a bélnedvében, hasnyálmirigyében, májában, tüdejében, veséjében, lépében stb.

A limfában és a vérsavóban is van maltáz; legtöbb van a sertés vérsavójában, kevesebbet találunk a kutyánál, lónál, borjúnál és a juhnál.

Előállítás. Legczélszerűbb a sörélesztőből kiindulni. A maltóz itt olyan alakban van jelen, hogy vízzel nem oldható ki belőle könnyű szerrel. Ezért szükséges az élesztőt megszáritani. 200 g. friss sörélesztőt 5 liter vízvezetéki vízzel addig rázunk, míg a rázás abbahagyása után, az edény fenekén nem csomósodik már össze az élesztő (körülbelül $\frac{1}{4}$ óra).

Néhány órai állás után, miközben az élesztő nagy része leülepedett, P u k a l l-féle agyagszűrőn¹ a tömeget megsűrjük, a csapadékot rövidebb időre agyagtányérokra kenjük, majd a kissé megszikkadt tömeget itatós papirosra terítjük szét, lehetőleg vékony rétegben és szobahőmérsékleten savgőztől mentes helyiségben megszáritjuk, miközben az összecsomósodott részeket gondosan szétdaraboljuk. Körülbelül 2 nap alatt a tömeg megszárad, mire mozsárban lehetőleg finomra dörzsöljük el. A port most 24 órára 20-szoros mennyiségű vízzel eldörzsölve, zárt üvegben, toluollal védve, hagyjuk állni. Ilyenkor a maltáz feloldódik.

Maltáztartalmú folyadéknak elég alkalmas például a lónak rothadás-tól védett vérsavója.

A maltáz jelenlétének felismerése. A maltázt némelykor felismerhetjük és viszonylagos mennyiségére is következtethetünk azáltal, hogy az oldat forgatótehetségét és a redukció mértékét az enzimhatás előtt és után meghatározzuk. Kimutatására legczélszerűbb az oszazon-próba.² Ezt úgy végezzük, hogy a maltáztartalmú anyagot 10%-os maltózoldattal néhány napig, toluol jelenlétében, 30°-os thermostatban tartjuk, majd a proteinektől nátriumacetáttal melegítés útján megszabadított oldatot a maltóz kétszeres mennyiségével egyenlő súlyú phenylhydrazinchlorhydráttal és 3 súlyrész nátriumacetáttal, $1\frac{1}{2}$ óra hosszat vízfürdőben főzzük, olyan lombikot használva fel, melynek szájába a víz elpárolgásának megakadályozására hajszálcsővel felszerelt dugó van erősítve. Ha a maltóz bomlása annyira haladt, hogy az oldat körülbelül 1% glükózt tartalmaz, akkor már melegben kiválnak a glukoszazon citromsárga hosszú vékony tűi. Az $1\frac{1}{2}$ óra letelte után az oldat kihülésekor a hideg vízben nehezen oldható máltoszazon is kiválik. 1 órai állás után a szivattyú segítségével leszűrt oszazonkeveréket a felhasznált cukor 50-szeres mennyiségével egyenlő súlyú vízzel forraljuk, forrón szűrjük és az oldhatatlan oszazont forró vízzel kimossuk. A 100°-on megszáritott phenylglukoszazon súlyából megközelítőleg az enzim mennyiségére is vonhatunk következtetést. Biztos összehasonlítás kedvéért az előállított oszazont 50%-os alkoholból átkristályosítjuk és olvadáspontját is meghatározzuk.

¹ A használandó készülék rajzát megtaláljuk B a r t a l A., Szerves készítmények előállítása 117. lap, 56. rajz.

² E. F i s c h l e r, Ber. 28, 1437 (1895).

A maltáz tulajdonságai.

A különféle eredetű maltázok meglehetősen eltérnek sajátágaikban: némelyik gyengén lúgos, másik közömbös, sőt gyengén savanyú oldatban leghatásosabb. Elektrolitek jelenléte az enzim hidrolízisre úgy látszik kedvező. Alkohol és chloroform az élesztőmaltáz működését csökkentik, az *Aspergillus* maltázra ellenben a chloroform alig hat. Az élesztőmaltáz hőmérsékleti optiuma 40° ; 55° -on hatását elveszti. Az árpa-maltáz optimális hőmérséklete 55° . A maltáz a maltózon kívül elbontja az α -glükózidokat is. Ebből Fischer Emil arra következtet, hogy a maltózban a két glükózmaradék egymással α -kapcsolatban van. A következtetés helyességének feltétele, hogy a maltózt és az α -glükózidokat hidrolizáló enzim valóban ugyanaz. Hatásos maltázoldat elveszti hatását, ha czellulózhártyán szűrjük meg; állati hártyán és agyagszűrőn áthatol az enzim.

A maltáz a legkényesebb enzimek egyike. Oldata csak néhány napig marad hatásos, ha különös gondot az edény fertőtlenítésére és annak jól zárására nem fordítunk.

A maltáznál sikerült először kísérletileg beigazolni azt, hogy az enzimhatások megfordíthatók. A Croft Hill¹ ugyanis kimutatta, hogy olyan maltázoldatban, mely számottevő mennyiségű glükózt tartalmaz, a maltóznak kisebb mennyisége hidrolizál a maltáz hatására, mint akkor, a mikor az enzim tiszta maltázoldattal érintkezik; mert magyarázata szerint az előbbi esetben a glükóz-molekulák egy része nagyobb molekulákká tömörül. Glükózoldatból kiindulva is sikerült neki szintetikus disaccharidot létesíteni. Eredményeit eleinte az optikai vizsgálat és a redukció meghatározásának egybevágó változásából vonta le; később a reakcióelegyből két kristályos disaccharidoszazont is különített el. Szerinte a maltáz szintetikus hatása következtében a glükózból maltóz és egy új disaccharid: *revertóz* keletkezik. Utóbbit nedvszívó tömeg alakjában le is választotta. A cukor redukálótétele $R = 47.5\%$ -a a glükózénak, forgatótetele $[\alpha]_D = +91.5^{\circ}$; maltáz-tartalmú élesztő nincs reá hatással; oszazonja aethylacetátból hosszú tűkben kristályosodik, melyeknek olvadáspontja $173-174^{\circ}$, oldatuk pedig a poláris fényre hatástalan. Tekintve azonban, hogy nem kristályos, tehát bizonyára tisztátalan cukorról van szó, a bizonyítékok nem meggyőzők; annál kevésbé, mert Emmerling, Armstrong és Bayliss szerint a fentemlített körülmények között izomáltóz keletkezik. A maltáz hatására a glükózból létesülő cukor minősége még mai napig sincs megállapítva,

¹ A. Croft Hill, *Journal of the chemical Society* 73, 634—658 (1898); 83, 578—598 (1903). *Proceeding of the chemical Society* 19, 99—101 (1903).

annyi azonban bizonyos, hogy a folyamat valóban a maltáz szintetikus hatásának tulajdonítható.

A maltázos hidrolizisek sebességét Armstrong¹ tanulmányozta. Azt találta, hogy a monomolekulásnak számított reakció egyensúlyi állandói rohamosan csökkennek az idővel. Ezzel ellentétben Philoche és Terroine² arra az eredményre jutottak, hogy a monomolekulás reakció állandója eleinte növekszik s csak később csökken. Az egyensúlyi állandók különben a maltáz koncentrációja szerint is változnak. Herzog³ megint egész más eredményeket talált. Mindebből azt láthatjuk, hogy a kísérleti körülmények nem voltak eléggé pontosan megszabva s azért a hány kutató, annyi eredmény.

A keményítő diasztázos hidrolizisének már régen észleltek glükózt is. Mering mutatta ki először, hogy a glükóz itt másodlagos folyamat következtében van jelen. Bourquelo t, később pedig Fischer Emil bizonyította be, hogy a maltóznak erjedése csak úgy mehet végbe, ha előbb a maltóz a maltáz hatására glükózra bomlott. Az állatvilágban előforduló maltázokat már Mering, Külz és Musculus megfigyelték.

Laktáz (Laktoglükáz).

A tejcukrot hidrolizálja, miközben d-glükóz és d-galaktóz keletkezik. Előfordul az ú. n. tejcukorélesztőkben: *Saccharomyces Kefir* S. *Tyrolcola* S. *fragilis* S. *acidi lactis* stb.; nincs jelen azonban a közönséges sörélesztőkben, továbbá a *Saccharomyces anomalus* és *octosporus*ban. A mikroorganizmusok közül sokan rendelkeznek laktázzal, így a *Bacillus acidi lactis*, *Bacterium lactis acrogenes*, a bulgáriai tejsavbacillus stb. A penészgombákban is gyakori a laktáz. A mandulaemulzinban, továbbá a Rosaceák, a mustár, a citrom, több hüvelyes vetemény magvaiban, a torma levelében stb. találtak laktázt. Több csiga, rákféle és bogár emésztőnedvei előidézik a tejcukor enzimes bomlását. Fiatal, még ki nem fejlődött emlős állatok vékonybelében is van laktáz, melynek jelelenléte a szoptatási időszak folyamán fontos szerepet visz, a mennyiben az enzim a tejben oldott tejcukrot a szervezetre nézve könnyen és jól értékesíthető hexózokká alakítja. A kutya vérsavójában rendes körülmények között nincs laktáz, ha azonban tejcukrot fecskendeznek az állatba, úgy látszik, hogy a vérplazma, illetve savó alkalmassá válik a tejcukor hidrolizálásra.³ A mikor pedig házinyulak bőre alá és tyúk

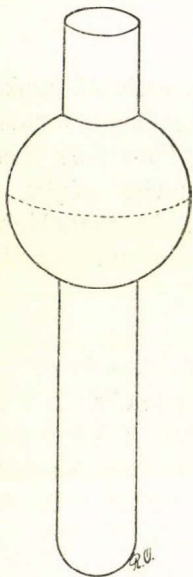
¹ Armstrong E. F., *Proceedings of the royal Society* 73, 508 (1904).

² Philoche, *Comptes rendus de la société de biologie* 57, 171 (1904). — Terroine, *Archivio di fisiologia* 2, I. (1904). *Comptes rendus* 138, 778—779 (1904).

³ E. Abderhalden u. C. Brahm, *Zeitschft. f. physiolog. Chemie* 64, 429—432 (1910).

mellizmába kefiraktázoldatot fecskendeztek, az állatok vérsavója nem-sokára a tejcukornak laktáz hatására végbemenő bomlását lassította, a kísérleti állatok vérében tehát enzimméreg (antienzim) keletkezett.

Előállítás. Újszülött borjú és bárány belének nyálkahártyáját apróra vagdaljuk és négyszeres mennyiségű vízzel lúgozzuk ki jégsekrényben. Három napig tartó pállítás után, a megszűrt oldatot collodiumhártyában dializáljuk, gondoskodva arról, hogy a dialízis nyomás jelenlétében történjék. Néhány napnyi dialízis után proteines alkotórészekből álló terjedelmes csapadék válik le, melyről a folyadék tisztáját leöntjük és új hártában ismét dializáljuk. E műveletet annyiszor ismételjük, a míg a teljesen átlátszó és színtelen oldatnak elektromos vezetőképessége a desztillált vizét közelíti meg. Ilyenkor az oldatban a laktázon kívül már egyéb enzim nincs.¹



27. rajz. Kollódiumtömlő készítéséhez szükséges üvegcső.

Egyéb laktáztartalmú oldatot is ugyanezen eljárás szerint tisztíthatunk.

Ha olyan laktáztartalmú oldatra van szükségünk, melyben egyéb enzimek jelenléte munkánkban nem zavar, legegyszerűbb kefirgumókból vizes oldatot készíteni és azt megszűrni.

A dialízishez szükséges kollódiumtömlő úgy készül, hogy 250 g. lövőgyapotot 300 g. éter és 700 g. abszolút alkohol elegyében feloldunk. Most a folyadékba a mellékelt rajzban látható alakú és külső felületén gondosan megtisztított üvegcsövet (csukott végét lefelé tartva) mártunk 2—3 másodpercre, úgy hogy a folyadék a rajzban pontozott D vonalig érjen. (27. rajz.)

Az üvegcsövet kivéve és azt folytonosan forgatva, megvárjuk, a míg néhány másodperc múlva az éter szaga nem érezhető, de az alkoholé jól kivehető. Ekkor a bemártást megismételjük, s ha szükséges, még harmadszor is el végezzük e műveletet, hogy a kollódiumhártya kellő vastagságát elérjük. Végül az üvegcsövet hideg vízbe helyezzük, mire a hártya használatra kész, csak le kell húzni az üvegcsőről. E célból az E-vel jelölt hajlásig késsel nagyon óvatosan lefejtjük a hártyát a tekéről, majd pedig az egyenes A csődarabról úgy húzzuk le a kifordított hártyát, mint ujjainkról a bőrkesztyűt.

¹ H. Bierry és G. Schaffer, Comptes rendus de la société de Biologie 62, 723—725 (1907).

Egy másik eljárás szerint az üvegcsövet előbb megolvasztott paraffinba mártjuk s ennek megkeményedése után vonjuk be a csövet kollódiumhártyával. Végül forró vízbe helyezvén a csövet, a paraffinréteg kiolvad, mire a hártya könnyen lehúzható.

A kollódiumhártyát üvegcsőre erősítjük, pohárba helyezzük és kész a dializáló készülék.

A laktázt legczélszerűbben az oszazonpróba segítségével ismerhetjük fel. E célból a maltáznál leírt módszert követve, elkülönítjük a forró vízben oldhatatlan oszazonokat. 50%-os alkoholból átkristályosítva a glükoszazon és galaktoszazon keverékét kapjuk, mely gyors melegítésre hajszálcsőben 203 és 205° között olvad meg gázfejlődés és bomlás közben. Nitrogéntartalma: 15·6%. Mikroszkóppal nézve a kristálytömeget, benne kétféle kristályt találtunk. Az oldhatatlan oszazonok mennyiségéből a hidrolízis mértékére is lehet következtetni.

A laktáz mennyiségi hatását követni nehéz, mert a laktóz, glükóz, és galaktóz keverékében az egyes cukrok meghatározása nehéz. Az optikai forgatótehetség alapján Brachin és Porcher¹ igyekeztek a laktáz enzim hidrolízisét tanulmányozni.

A különféle eredetű laktázok működése is különböző. A mandulából készült laktázoldat éppen úgy, mint az, a melyet újszülött borjú beléből, továbbá kerti csiga emésztőnedvéből előállítottak, bírják a laktóz ueridot $C_6H_{12}O_5 : N.CO-NH_2$ is szabad galaktóz létesítése közben bontani. A két első készítmény azonban hatástalan a laktobionsavval és laktoszazonnal szemben. A kerti csiga emésztőnedve azonban a laktobionsavat² galaktózra és glükonsavra, a laktoszazont pedig galaktózra és glükoszazonra bontja. Lehet, hogy itt különleges enzimről van szó: a *laktobionázról*.³

A laktázoldatokat pergamentpapiroson, vagy agyagszűrőkön szűrni nem lehet, csak kollódiumhártyák eresztik át, miközben azonban adszorpczió útján szintén veszteség áll be. Literenként 0·02—0·04 g. sósav, vagy ecetsav előnyös, 1·20%-os ecetsav már kedvezőtlen a laktáz hatására, 2·40%-nyi ecetsav jelenléte pedig teljesen megakasztja a folyamatot. Alkalifémhidroxidok jelenléte nagyon lassítja a reakciót. Galaktóz vagy α -methylgalaktozid szintén reakciósebességcsökkenést idéznek elő. A tejsav és az alkohol jelenléte nem káros. A kerti csiga

¹ Brachin, Journal de pharmacie et de Chimie [6] 20, 195, 300 (1904); Porcher, Bull. de la Soc. Chim. de Par. [3] 33, 1285 (1905).

² A laktobionsav tejcukorból brómmal végzett oxidáláskor keletkezik. Benne a tejcukormolekula egész láncza érintetlen marad, csak az aldehid csoportja alakult át carboxyllá.

³ H. Bierry és A. Ranc, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 66, 522—523 (1909); H. Bierry, Comptes rend. de l'Acad. des Sc. 148, 949—952 (1909).

emésztőnedvében előforduló laktáz már 58—60°-nál tönkremegy, míg a növényeredetű laktázok működésének felső határa 75—80°.

A tejcukor enzim hidrolizisét a reakció kinetikája szempontjából Armstrong¹ vizsgálta meg. Az egyensúlyi állandó, ha a folyamatot elsőrendű reakció alapján számítjuk, szabálytalan. Az állandó kisebbedésének feltétele valószínűleg az enzim és szubsztátumának koncentrációbeli viszonyától függ. A midőn az enzim mennyisége aránylag nagy, az egyensúlyi állandó az idővel folytonosan csökken; kevés enzim jelenlétében eleinte az egyenlő időközökben hidrolizált tejcukor mennyisége állandó. Sok enzim jelenlétében a cukor koncentrációjának növekedésével az elbomlott cukor mennyisége is növekszik. Sok tejcukor jelenlétében a hidrolizált disaccharid mennyisége annak koncentrációjával fordítva arányos.

A laktóz szintén alkalmas szintéziseket létesíteni. Mikor egyenlő mennyiségű glükózt és galaktózt oldtak fel kefir-laktáz vizes oldatában, a tömény oldat forgathatósága fokozatosan csökkent, míg körülbelül két hét múlva határértéket ért el, mely a két ellenkező irányú kémiai folyamat egyensúlyát jelezte. Miután az oldatból felsőerjesztésű élesztővel, erjesztés útján a fölös mennyiségű monosaccharidot eltávolították, a visszamaradt anyalúgból phenylhydrazin segítségével egy még ismeretlen cukornak oszazonját lehetett elkülöníteni, mely nagyon hasonlít a laktoszazonhoz; olvadáspontja 190—193° (kon. 193—196°). Az oszazont benzaldehiddel elbontva, a talált oszon kefir-laktáz hatására épp úgy, mint a tejcukor, hidrolizist szenvedett; alsóerjesztésű élesztő ellenben a tejcukortól eltérően elerjesztette. Emulzin hatására hidrolizist nem szenvedett, mint a tejcukor. Az oszon viselkedése enzimekkel szemben mindig megegyező lévén a cukoréval, belőle a cukor sajátosságaira következtethetünk vissza. Az új disaccharidot, melyet az eddig ismert cukrok egyikével sem sikerült azonosítani, *izolaktóz*-nak nevezték el.² A kefir-laktáz a glükózt magát is magasabbrendű cukorra alakítja.

Trehaláz (trehaloglükáz).

A trehalózt alakítja át d-glükózzá hidrolízis folytán. Előfordul némely tejsavat létesítő baktériumban, némely élesztőfajtában, számos gombában, a csirázó árpában, a házinyúl, a ló, a macska és a kutya vékonybelének nyálkahártyájában, a ponty, a csuka és az angolna vérsavójában. Működését nagyon gyengén savanyú környezet élénkíti. 64°-on elveszíti hatásosságát.

Felismerése nagyon könnyű, mert a trehalóz nem redukál, míg bomlási terméke: a d-glükóz igen. Kényelmes továbbá működésének

¹ Armstrong E. F., Proceednigs of the Royal Society 73, 506 (1904).

² Fischer E. és Armstrong E. F., Ber. 35. 3144—3153 (1902).

tanulmányozására az optikai módszer, mert a trehalóz és glükóz között lényeges forgatótehetségbeli különbség van. Az oszazonpróba is jó eredménnyel használható.

Fölfedezését Bourquelot-nak (1893) köszönhetjük.

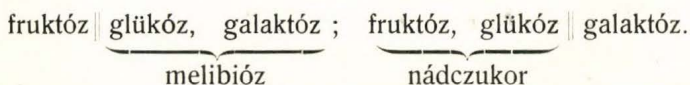
Melibióz.

A melibiózt bontja d-glükóz és d-galaktózza. Jelenléte kimutatható az alsó erjesztésű élesztőben, több penészgombában: *Monilia javanica*, *Aspergillus niger* és a *mandulaemulzinban*. Jellemző sajátága, hogy vízben nem nagyon könnyen oldható. 1% oxálsav, vagy nátronlúg, 0.9% sósav, 0.5% kénsav, 0.1% ezüstnitrát, 0.02% mercurichlorid jelenlétében tönkremegy. Proteázokkal szemben érzékenyebb, mint az invertáz, viszont sokkal ellentállóbb, mint akár a maltáz, akár a zimáz. Hőmérsékleti optimuma 50°, működésének felső határa 70°. Jelenlétének kimutatására alkalmas az optikai módszer, továbbá az oszazonpróba.

Raffinázok.

α -raffináz.¹ (Raffinomelibáz.)

A három különféle monosaccharidból keletkezett trisaccharid: a raffinóz, kétféle enzimes bomlást szenvedhet a következő minta szerint:



Az első esetben fruktóz és melibióz keletkezik részleges hidrolízis következtében, melyet az α -raffináznak nevezett enzimnek tulajdonítunk. Ez az enzim különösen felsőerjesztésű élesztőkben fordul elő és lehetővé teszi a melibióznak a raffinózból való előállítását. Megtalálták még több gombában, a *pneumoniabacillusokban*, a csirázó árpában, a kerti csiga emésztőnedvében, lepidopterák álczáiban stb.

Legkényelmesebb felismerési módja az oszazonpróba. E célból a reakciókeveréket a szokásos módon a proteineknek nátriumacetáttal való eltávolítása után, phenylhydrazinchlorhydrát és nátriumacetáttal 100°-ra melegítjük. A fruktózból keletkezett glükoszazon ilyenkor melegítés közben kiválik, míg a melibioszazon oldatban marad. Lehűtés után a kiválott kristálytömeget leszűrjük és a használt cukor körülbelül 50-szeres

¹ Az α - és β -raffináz elnevezést itt használom először még kiadatlan kísérleteimből levont következtetéseim alapján. Az α - és β -jelzők használata azért czélszerű, mert általuk mindjárt megtudjuk, hogy az egyik a nádcukormaradékban, tehát α -glükozidban levő kapcsolatot old meg, míg a másik az enzimes hidrolízisekre jellemző β -glükozidkötést bontja. A raffinomelibáz név az enzimnevezéktan alapszabályaival ellenkezik, miért is a megfelelő raffinósaccharáz nevet sem honosíthatjuk meg.

mennyiségével egyenlő vízzel főzzük ki, majd forrón szűrjük. Lehűtésekor a melibioszazon sárga kis meghajlott tűkből összerakott pelyhekben válik ki, melyek megszárítva sárgásbarna tömeggé változnak.

A raffináz közelebbi sajátságai még nem ismeretesek, alkálifém-hydroxidok hatását csökkenti. Sokan ezt az enzimet az invertázzal azonosítják, a mi magában véve nem is volna valószínűtlen, hiszen mindkét esetben a nádcukornak is, a raffinóznak is hidrolizisénél a fuktóz-glükóz kapcsolat bomlik fel. Ezzel a feltevással ellenkezik azonban az a tapasztalat, hogy a *Saccharomyces octosporus* élesztő, mely a nádcukrot nem bontja, a raffinózt hidralizálja, viszont más élesztőalakok meg a nádcukrot bontják, míg a raffinózra hatástalanok; az állati invertáz-tartalmú nedvek szintén alkalmatlanok a raffinóz elbontására.

β -Raffináz.

Az enzim a fent vázolt hydroлизiseknek második esetét idézi elő, mely szerint a raffinóz nádcukorra és galaktózra bomlik. Neuberg¹ ezt a bontást először mandulaemulzinnal végezte. Nyilvánvaló azonban, hogy nem a tulajdonképpeni emulzin, hanem a kereskedésbeli készítményben jelenlévő különleges enzim munkája okozza a raffinóznak ezt az érdekes hidrolizisét. Legjobb bizonyíték erre az, hogy a felső erjedésű gomba, továbbá a *Penicillium glaucum* és *P. Camemberti* penészgomba, végül a kerti csiga bélnedve, emulzintartalmuknak dacára, a raffinózt mégis az α -raffináz működése szerint fruktózra és melobiózra bontják. Ezen esetek közül a legelső éppen típusa az α -raffináznak, mert segítségével történik a melibióz előállítása is. Az ellentétek azonban elsimulnak, ha meggondoljuk, hogy az emulzin tipikus hatása az amygdalin glükozid hidrolizisében nyilvánul, míg a többi mellékhatás, melyet a mandulaemulzinon lehet észlelni, s mely más enzimek jelenlétének tulajdonítható, a több más emulzinkészítménynél nem mindig észlelhető. Az előbb felsorolt enzimek készítmények mind bontják ugyan az amygdalint, a β -raffináz tulajdonságai azonban nem lelhetők fel bennük.

Gentiobiáz.

A gentiobióz disaccharidot hidrolizálja 2 molekula d-glükózra. Bourquelot² találta meg az *Aspergillus niger* nevű penészgombában és a mandulaemulzinban. Tulajdonságai még tanulmányozásra szorulnak.

¹ Neuberg C., *Biochemische Zeitschrift* 3, 519—534 (1907); Neuberg C. és Marx F., *Biochemische Zeitschrift* 3, 535—538 (1907).

² Bourquelot E., *Comptes rendus de la société de Biologie* 54, 1140—1143 (1902); Bourquelot E. és Hérisey H., *Comptes rendus de la société de Biologie* 55, 219—221 (1903).

Cellpz vagy cellobiáz.¹

A cellobiáz disaccharid hidrolízisét végzi, minek következtében abból d-glükóz keletkezik. Előfordul számos penészgombában: *Allescheria Gayoni*, *Aspergillus Wentii*, *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Penecillium purpurogenum*. Csekély mennyiségben jelen van a kefirgumókban. Az árpában, mandulában és barackmagban szintén van cellobiáz, ezzel magyarázható, hogy a kereskedésbeli emulzin is bontja a disaccharidot. Lehet, hogy fiatal, tejjel táplált állatok belének kivonatában is jelen van.

A raffináz alkalmazása.

A β -raffináz a mandulaemulzinon kívül előfordul az *Allescheria Gayonii*, a *Penecillium africanum*, a *P. purpurogenum* gombákban,² továbbá a kefirgumók kivonatában.

A β -raffináznak előfordulása a mandulaemulzinban gyakorlati alkalmazásokra is számíthat, a mennyiben nagymennyiségű nádcukor jelenlétében a raffináznak nyomai is kimutathatók azáltal, hogy ha néhány napig emulzinnal áll, a keletkezett galaktózból az oldat redukálódva lesz, míg tiszta nádcukoroldatra az emulzin hatástalan.

Az erjesztéssel dolgozó iparágakban is érvényre jut a β -raffináz hatása, a mikor a felső erjesztésű élesztővel még nem erjeszthető raffináztartalmú nádcukoroldatokhoz emulzinkészítményeket kevernek, miáltal az erjedés teljes lesz.³

A β -raffináz kimutatására alkalmas az oszazonpróba, melynek eredménye galaktoszazon. Ha mindkét bomlási terméket el akarjuk különíteni, akkor a galaktózt methylphenylhydrazonja alakjában választjuk le a szüredékből a methylphenylhydrazin fölöslegét éterral kioldva, a besűrített nádcukorszirupot kristályosodni hagyjuk.

* * *

A kevésbbé tanulmányozott czukrotbontó enzimek sorából megemlítem: a *melezitázt*, mely a melizitóz trisaccharidot hidrolizálja glükózra és turanózra; a *gentianázt*, mely a gentianózból fruktózt és gentiobiózt, továbbá a *stachyázt*, mely a stachyóz tetrasaccharidból fruktózt és manninotriózt létesít. Bierry⁴ szerint, minthogy mindhárom czukorra

¹ Fischer Emil és Zemplén Géza, *Liebig's Annalen* 365, 1—6 (1909); 372, 254—256 (1910); Pringsheim H. és Zemplén Géza, *Zeitschrift für physiologische Chemie* 62, 367—385 (1909); Bertrand G. és Holderer M., *Comptes rendus de l'Académie des sciences* 149, 1385—1387 (1910), 150, 230—232 (1909).

² Pringsheim H. és Zemplén Géza, *Zeitschrift f. physiologische Chemie* 62, 367—385 (1909).

³ M. Gollmert, D. R. P. K. 89 I. Nr. 195 072 5/8 1906 [14/2 1908], *Zentralblatt* 1908 I, 1126.

⁴ H. Bierry, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* 148, 949—952 (1909).

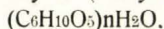
fruktóz képződése közben hat a kerti csiga emésztőnedve, mindhárom esetben egyetlen enzimnek, a *lävulopoliáznak* jelenlétét tételezi fel, a mi azonban nem kellőképpen indokolt.

Amiláz (Diasztáz).

Az amyláz név illeti meg azt az enzimet (illetőleg enzimeket), mely a keményítőt hidrolízis útján dextrinekké és maltózzá alakítja át. Valószínűleg ugyanez az enzim végzi a glükogén hidrolízisét is.

Mielőtt a diasztáznak és működésének tárgyalására térnék, szükséges az alapanyaggal, a keményítővel, továbbá a glükogénnel megismerkednünk.

Keményítő (*Amylum*).



Az n szám még csak megközelítően sem ismeretes.

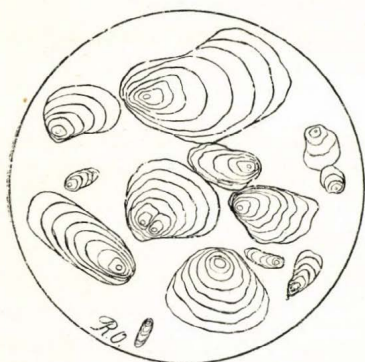
Valamennyi chlorophylltartalmú növényre jellemző a keményítő, mely a növény áthasonításának eredményeként megjelenő czukornak kondenzációs terméke. Különösen mint tartaléktáplálék nagy fontosságú és a növények legkülönbözőbb részeiben halmozódik fel. Alkalom adtán enzimes hidrolízist szenved s a keletkezett czukor a növény nedveiben feloldva oda jut, a hol szükség van rá. Előállításához a keményítőben dús növényrészeket apróra morzsolják és a keményítőt vízzel kiiszapolják. Ha a növényrészek proteinek, zsírokat stb. tartalmaznak, az eljárás kissé bonyolultabb, de akkor is legtöbb esetben mechanikai úton állítják elő a keményítőt.¹ Enzimekkel végzendő kísérletekhez legjobb a burgonyából készült keményítő, a mennyiben ez rendszerint a legtisztább.

A keményítő jellemző alakban jelenik meg a különböző növényekben és szemekből áll, melyek sugarasan elrendezett apró trichitekből épülnek fel, a keményítőszemek eszerint szfaerokristályok. Szerkezetük rendszerint olyan, hogy az $u. n.$ mag körül trichitrétegeket lehet kivenni. A rétegzettség a fejlődő keményítőszemet kiválasztó anyalúg koncentrációváltozásának következménye. A trichites szerkezetre vonatkozó vélemény helyességét igazolja a keményítőszemek optikai viselkedése: a poláros fényben keresztezett nikolok között mutatkozó fekete kereszt, melynek karjai a nikol rezgési irányának felelnek meg.

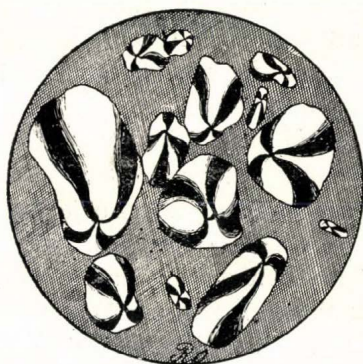
A keményítőszemeket alkotó anyagnak egységes voltát már régóta kétségbe vonták és kétféle anyag elegyének tekintették. Nagy zavart okozott ezen a téren a sok egymásnak ellentmondó és kétséges értékű megfigyelés. Manapság rendszerint Maquenne és tanítványainak fel fogását fogadják el; be kell azonban ismernünk, hogy a keményítőre vonatkozó ismereteink Maquenne vizsgálatainak dacára is eléggé

¹ Lásd Kosutányi Tamás, A mezőgazdasági kémiai technológia alapelvei, 4—32. lap.

zavarosak. Szerinte a keményítő két egymástól teljesen eltérő anyagnak: az *amylóznak* és az *amyllopektinnek* keveréke. Előbbi azonos a N ä g e l i-féle amylocellulózzal és a M a y e r-féle α -amylózzal s a régebbi adatokkal ellentétben a keményítő súlyának körülbelül 60%-a. Alklifém-hydroxidokban maradék nélkül oldódik, csirizt nem alkot, jó hatására élénken megkékül. Diasztázos hidrolizist csak akkor szenved, ha előzőleg oldatba jutott. Az amylóz sem homogén anyag, mert egymáshoz közelálló anyagok sorozatából épül fel. Ezek egymástól forró vagy túlhevített vízzel szemben tanúsított viselkedésükben térnek el. Az *amyllopektin* vízben és lúgokban oldhatatlan kocsonyás anyag, diasztáz hatására gyorsan feloldódik és jóddal gyengébben színeződik, mint az amylóz.



28. rajz. Burgonyakeményítő természetes megvilágításban.



29. rajz. Burgonyakeményítő poláros fényben.

Ez a keményítőszemek burka és belőle áll a rétegeket egymástól elválasztó hártya is.

Az enzimek tekintetében fontos, hogy a keményítő rendszerint lúgos kémhatású, még pedig az előállításánál használt mészwíz következtében. Ezt a körülményt a kísérletezésnél tekintetbe kell venni és csekély mennyiségű ásványsavakkal pótolni. A keményítő gyenge sav tulajdonságú. Fémhydroxidokat és közömbös sókat adszorbeál. Az elektromos áram hatására savanyú oldatban a katód felé, lúgos oldatban az anód felé mozog. 100° fölé melegítve folyton veszít súlyából, dacára annak, hogy bármily hőmérsékleten állandó súlyig szárítható. Vízét csak 130°-on veszti el teljesen. 150—160°-nál sárgulni kezd, miközben a szemek magyában apró gázbuborékok jelennek meg.

A keményítő hideg vízben oldhatatlan; meleg vízben felduzzad, a rétegek egymástól elválnak, a külső burok szétszakad és keményítő-csiriz áll elő. A csirizképződés módja és a hozzá szükséges hőmérséklet a különböző keményítőfajták szerint változik. 'S i g m o n d E l e k vizs-

gálatai alapján a rizs- és burgonyakeményítő 72°-on, a tengeri 68°-on, a búza 72°-on csirizesedik el. A csiriz tulajdonképpen vízben oldott amylóz, melyben az oldatlan nyálkás amylopektin van lebegő állapotban. Romlástól védve a csiriz lassankint átlátszatlan lesz s végül gömböcskéből álló oldatlan anyagot választ ki. Ez az a folyamat, melyet Maquenne a keményítő *retrogradációjának* (visszaalakulásának) nevez. A retrogradált keményítő épp úgy, mint a természetes keményítő, amylóz és amylopektin keverékéből áll, csak hogy benne az amylóz-sorozatnak kevesebb tagja szerepel. Az amylóz egy része ugyanis oldatlan marad, az amylopektint ellenben az amylóz kiválásakor tökéletesen magával ragadja. A retrogradáció alacsony hőmérsékleten gyorsabban következik be, ha pedig a csirizt 60°-on tartjuk, egyáltalában nem. Ásványsavak nyoma rendkívül elősegíti a folyamatot, továbbá az árpából készült kivonat, melyben retrogradációt gyorsító enzimet: amylokoagulázt is tételezett fel némely kutató. Káliumhidroxidoldat megakasztja a csiriz retrogradációját.

Ha a keményítőt autoklávban, víz jelenlétében 138°-ra hevítjük, egynemű nem opalizáló folyadék keletkezik. Ezeken az oldatokon is látható a retrogradáció jelensége.

A savakkal végzett hidrolízis végeredményben d-glükózt létesít, a közbeeső termékek ismerete azonban még hiányosabb, mint a diasztázos hidrolízisnél. Híg alkálifémhidroxidok a keményítőt vízben oldható módosulattá alakítják, erősebb oldatok hidrolizáló hatásokat végeznek. Barytvízzel melegítve 150—180°-on hangyasav, propionsav, oxálsav, glükolsav, tejsav stb. keletkezik. Jód hatására kékszínű jódkeményítő áll elő.

A keményítő fontosabb származékai.

Jódkeményítő. A keményítő szilárdan oldva, vagy elcsirizesítve jóddal jellegzetes indigókékre színeződik; a szín melegítéskor eltűnik, kihűléskor ismét megjelenik. A reakcióhoz úgylátszik szükséges hidrogénjodid nyomának jelenléte. Alkálifémhidroxidok, arzénessav, kénessav, nátriumthiosulfát, alkohol, chloroform, tannin, phenolok, gummiarabikum és felfőzött malátakivonat zavarják a reakciót. Tömény káliumjodidoldat hatására a kék jódkeményítő a vörös módosulatba megy át.

Előállítására végett a jóddal elegyített keményítőoldatból kénsavval kicsapjuk a jódkeményítőt és vízzel kimossuk. Összetétele valószínűleg $(C_6H_{10}O_5)_4 HJ$. Ha beforrasztott csőben vízzel huzamosabb ideig 100°-ra melegítjük, az oldat kihűlésekor a kék szín többé nem tér vissza.

A keményítő kimutatása és meghatározása.

A keményítő kimutatására gyakran alkalmas a mikroszkópos vizsgálat, melynek alapján a keményítőfajtákat is egymástól nagyon sok

esetben meg lehet különböztetni. Legjellemzőbb reakció a kék jód-keményítő keletkezése. Mennyiségének meghatározása végett vagy a keményítőt választják le, vagy pedig részleges vagy teljes hidrolízisnek vetik alá. Utóbbi esetben a keletkezett d-glükóz mennyiségét határozzák meg. A közvetlen módszer szerint eljárva, a keményítőt előbb 4 légköri nyomás mellett, vízzel hevítve feloldjuk, a szüredékből pedig a keményítőt alkohollal csapjuk ki. E célból az oldatnak 60% alkoholt kell tartalmaznia. Az összegyűjtött keményítőt 120°-on szárítjuk meg. A közvetett módszernél keményítőnek határozzák meg mind azt az anyagot, mely hideg vízben oldatlan, azonban diasztáz, illetőleg túlhevített víz hatására feloldódik és teljes hidrolíziskor glükózzá alakul. Pentozánok jelenlétében ezeket az arabinóznál ismertetett módon külön kell meghatározni és a talált keményítő mennyiségéből levonni. Leggyakrabban a Märc ker-féle eljárást használják. Ennek kivitelénél a vizsgálandó anyagot 1/2 óra hosszat 30-szoros mennyiségű vízzel forralják, a tömeget 65°-ra lehűtik, malátakivonattal 2 óra hosszat 65°-nál pállítják, az egész műveletet megismétlik, végül a reakcióelegyet felforralják. A szüredéket híg sósavval hidrolizálják és a keletkezett glükózt határozzák meg, vagy pedig diasztázzal a hidrolízist csak a maltózig végzik s a cukor mennyiségét az oldatból élesztővel való erjesztés útján a fejlődő széndioxid mennyiségéből számítják ki. Újabban nagyon gyakran használják a Lintner-féle eljárást, a hol a keményítő hidrolízise csak részleges. E célból a keményítőtartalmú anyagot hideg sósavban, vagy hígított kénsavban oldják, a proteinek 8%-os phosphorwolfrámsav-oldattal kicsapják s a szüredék forgatótehetségét állapítják meg.¹

Oldható keményítő.

Gyakran tévesztették össze az irodalomban az amyloextrinnel. Maquenne szerint az oldható keményítőt az amylóz sorozatnak alacsonyabbrendű tagjai alkotják.

Keletkezik, ha a keményítőt autoklávban 140—150°-ra melegítjük, vagy ha híg savakkal melegen vagy hidegen alakítjuk át. Híg 1%-os kálilúg, nátriumperoxid, ammoniumpersulfát, káliumpermanganát, hangyasav és forró glicerín szintén oldható keményítőt létesít. A diasztázos hidrolízis első szakában mindig oldható keményítő keletkezik.

Előállítására céljából burgonyakeményítőt fél óra hosszat 1°/00-es sósavval hagyunk szobahőmérsékleten állani és tökéletes kimosása után a tömeget előbb 30°-on megszáritjuk, majd 8—10 napig 46°-ra, később pedig 1 1/2 óra hosszat 100—110°-ra hevítjük².

¹ Lintner C. J., Zeitschrift f. Untersuchung d. Nahrung u. Genussmittel 14, 205 (1907); 16, 509 (1908); A. Scholl, ugyanott 18, 157 (1909).

² Wolff és Fernbach, Comptes rendus 140, 1403 (1905).

Az oldható keményítő fehér, alakatlan tömeg, mely vízben már közönséges hőmérsékleten oldódik. Az oldat éppen úgy, mint a keményítőcsiriz, a retrogradáció jelenségét mutatja. Forgatótehetsége Lintner szerint $[\alpha]_D^{15.5} = +202.0$ (2.5—4—5%-os oldatban); az érték alkálifémhydroxid jelenlétében csökken. A Fehling-féle oldatot nem redukálja és jódval tiszta kék színeződést ölt.

Amilóz.

A keményítőnek főalkotó anyaga. A zöld borsóban lévő keményítő nagy amylóztartalmánál fogva úgy viselkedik, mint az amilóz maga. Frissen sült kenyérben néhány óra múlva megjelenik és mennyisége folyton növekszik. Valószínűleg nem egynemű, hanem különböző egymáshoz közelálló tagnak egész sorozata. Valamennyi tagnak közös sajátága, hogy jó hatására tiszta kék színt ölt, az amiláznak oldóképességével szemben azonban különbözően viselkednek.

Előállítására a túlhevített vízzel létesített keményítőoldatot visszaalakítjuk, mikor az amilóz nagy része oldhatatlanul kiválik s az összes amilopektint kiválásakor magával ragadja. Az amilopektint azonban könnyen eltávolítjuk, ha alacsony hőmérsékleten a visszaalakult keményítőt diasztáz hatásának tesszük ki. Ez az amilopektint könnyen oldja, egyszersmind az oldatban maradt amilózt elcukrosítja. Az oldatlan részt most kétszer 120°-os víz hatásának vetjük alá, azután 56°-on maláta-vonadék hatásának tesszük ki. E közben a kevésbé ellentálló amilóztagekat eltávolítjuk. A maradékot leszűrve és megszáritva, megkapjuk az amilózt.

Szaruhoz hasonló, kemény tömeg. Vízben 100° fölött is csak részben, 155°-on teljesen feloldódik. Kihüléskor rövid idő múlva újra retrogradál, sokkal könnyebben, mint a természetes keményítőnek túlhevített vízben készült oldata. A 0.642%-os vizes oldat forgatótehetsége $[\alpha]_D = +182.4$; körülbelül 5% nátronlúgban a forgatótehetsége $[\alpha]_D = +148.8—155.8$. Szilárd állapotban jó hatására nem színeződik. Lúgokban könnyen oldódik s az oldatnak túltelítésekor savval, a folyadék jódval tiszta kék színű reakciót mutat. Ez a viselkedés szolgál az amilóz kimutatására is. Malátaoldatban az amylóz nem oldódik, ha azonban az amilózt előzetesen feloldottuk vízben, diasztáz hatására már alacsony hőmérsékleten is gyorsan átalakul máltózzá.

Amilopektin.

A keményítőszemek burkát és a szemek rétegei között levő hártákat alkotja. Mennyisége a keményítőben körülbelül 40%.

Előállítására céljából 10 g. burgonyakeményítőt 500 cm^3 1%-os nátriumhydroxydoldat és 500 cm^3 víz elegyével szobahőmérsékleten hagyunk állni. E közben a szemek burka felduzzad, az oldat behatol a szemek belsejébe és kioldja belőlük az amilózt. Mikor a szemek burka, mikroszkóp alatt nézve a képet, jóddal hatására már csak ibolyakék és nem tiszta kék, a folyadékot eczetsavval telítjük és még egy térfogat vízzel elegyítjük, nemsokára az amilopektinburkok ismét összezsugorodnak. 24 órai állás után a leülepedett burkokat leöntés útján gondosan kimossuk és megszáritjuk. A termelés körülbelül 40%.¹ Hipertonikus sóoldattal vagy mésvízzel főzve a keményítőt, szintén amylopektint kapunk, mert e közben szintén kioldódik az amylóz, míg az amylopektin oldatlan marad.

Hideg vízben oldhatatlan; forró vízben csirizt létesít, mely retrogradációra alkalmatlan. Az amilopektinnek jelenléte okozza éppen a természetes keményítőnek is elcsirizeseését. Túlhevített vízben nagy viszkozitású oldattá változik. Alkáliák hatására feloldódik; az oldat semlegesítés után opalizál és 0.178%-os oldatban $[\alpha]_D = +221^\circ$ -nyi forgatótehetséget mutat. Jód hatására ibolyára színeződik. Malátakivonatban könnyen oldható, azonban sokkal nehezebben alakul maltozzá, mint az amilóz s a hidrolízis csak aktivált (sok ideig alacsony hőmérsékleten tartott vagy ásványsavakkal methyloorangehoz semlegesített, diasztáz hatására áll be.

Glükogén.

$(C_6H_{10}O_5)_n$.

A mi a növényeknél a keményítő, az az állatok testében a glükogén, t. i. tartaléktáplálék. Előfordul a májban (felnőtt ember mája körülbelül 150 g.-ot fogadhat be), az izmokban, csekély mennyiségben talán minden szervben. A máj a bélcsatornából a vérbe szívódott cukorfőlösleget összegyűjti és glükogén alakjában raktározza. A mikor ez a raktár betelt akkor az izmokba rakódik le glükogén. Ha még nagyobb a cukorfőlösleg, akkor megkezdődik a cukornak zsírrá való átalakulása. Egybevágó kísérletek azt mutatják, hogy nehéz munkánál legelőször az izmok glükogénje tűnik el, miből következik a glükogénnek az állati szervezetben teljesített fontos szerepe.

Előállítására céljából főleg cukor és keményítőtartalmú étellel táplált kutyáknak máját húsvagdoló géppel felapritjuk, a tömegből 500 g.-ot 500 cm^3 -nyi, vízfürdőben előre felmelegített, 60%-os kálikugba teszünk és 3 óra hosszat főzzük forró vízfürdőben. A főzés kezdetétől számított $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ óra elteltével a lombik tartalmát jól összerázzuk. A folyadékot lehűlése után 2 literre hígítjuk és 4 liter 96%-os alkohollal elegyítjük.

¹ Gatin-Gruzevska Z., Comptes rendus 146, 340 (1908).

Másnapra leülepszik a glükogén, melyet megszűrünk és előbb 6%-os, majd 96%-os alkohollal, később pedig étérrel és megint alkohollal jól kimosunk. A rendesen még festékanyagokat tartalmazó glükogént vízben szétosztjuk és óvatosan sósavat cseppentünk hozzá addig, míg a festékanyagok feloldódnak; többszöri szűrés után a folyadékot közömbösítjük s belőle a glükogént ismét leválasztjuk. Mennyiségi meghatározása is a leírt módon történik, csak hogy a sósavval derített oldatot egyenesen polarizáljuk. Az adatok pontosak.

Hófehér por, mely vízben erős opalizálás közben oldódik. A folyadékban a glükogén lebegő állapotban van. Belőle báriumhydroxid, eczetsav, csersav és phosphorwolfrámsav, magnézium és ammonium-sulfát kicsapja a glükogént. Ólomacetát, mésvíz és vaschlorid állandó összetételű csapadékokat létesítenek. Jódval mahagóni-barna színeződést mutat, mely melegítésre eltűnik. Forgatótehetsége $[\alpha]_D = +196.57^\circ$. Hígított savak dextrinek, maltózt, izomaltózt, végül d-glükózt eredményeznek. A Fehling-féle oldatot nem redukálja. Diasztáz hatására előbb dextrinek, majd pedig maltóz keletkezik belőle.

Az amiláz előfordulása.

Rendkívül elterjedt a növényvilágban. Előfordulása a csirázó árpában a legfontosabb, mert innen kapják a gyakorlatban is azt az enzimet, melylyel nagyban a keményítőt alkohol és sörgyártás céljaira elcukrosítják. Más csirázó növényben is megvan: a búzában, tengeriben, rizsben. Jelen van a burgonyagumóban, a fenyő pollenjében, a füge tejnedvében. A legkülönbözőbb növényrészekben, bár csekély mennyiségben, megtalálták. A magasabbrendű növények friss vizes oldata gyakran nem fejt ki diasztázos hatást, ellenben bizonyos ideig tartó állás után, vagy pedig gyenge megsavanyítás után a keményítőt hidrolizálni bírja. Ez a jelenség arra vall, hogy ilyen esetekben a diasztáz zimogénjeként van jelen és csak utólag alakul át enzimmé.

A kryptogám növények között is gyakori a diasztáz. Számos penészgomba, továbbá fát pusztító gomba hidrolizálja a keményítőt. Gyakorlati tekintetben gyakran fontos a kryptogámok amyláztartalma. Élesztősejtek is létesítenek diasztázt, az élesztő tehát rendelkezik olyan enzimekkel, melyeknek segítségével a keményítőt a glükózig változtathatja, melyet azután erjeszthet. Az amyláz jelenléte azonban az élesztőben meglehetősen csekély s így a gyakorlatban külön amylázkészítményekkel kell a maltózig menő hidrolízist végezni. Ezzel szemben némely penészgombában annyi diasztáz van, hogy segítségével nagyban is átalakíthatják a keményítőt cukorrá, még kedvezőbben, mint a csirázó árpanak az enzimével. Ilyen az *Aspergillus Oryzae* nevű penészgomba, mely a *takadiasztáz* nevű enzimet választja ki. Segítségével a japánok régóta a

rizskeményítőt cukorra alakítják, hogy azután a létesült czefrét kierjesztve, a „Szake“ nevű szeszes italt készítsék. A takadiasztáz sokkal erélyesebben működik, mint az árpa keményítőt hidrolizáló enzime; nagy előnye továbbá, hogy sósavval szemben sokkal ellentállóbb, mint az árpadiasztáz vagy a ptyalin. Tejsav, továbbá konyhasó jelenlétében hatása csökken.

Hasonló penészgomba, mely szintén gyakorlati fontosságra tett szert, az *Amylomyces Rouxii*, mely élesztőfajok közreműködésével a keményítőt elcukrosítják, hogy szeszes ital gyártására használják fel.

A legtöbb baktériumnak is van diasztázos hatása. Az állatvilágban is fontos szerepet játszik az amyláz. A magasabbrendű állatok nyálában van jelen és itt *ptyalinnak* is nevezik. Vele keveredik már az étel meg-rágása alkalmával a keményítő és kezdetét veszi a hidrolízis. A növényevő állatok, melyek túlnyomóan szénhidrát-táplálékra vannak utalva, sokkal több ptyalint termelnek, mint a húsevők. A később ismertetett Wohlgemuth-féle eljárás szerint végzett kísérletek azt mutatják, hogy az emberi nyál 24 óra alatt 5 liter 1%-os keményítőoldat elbontására képes. Az amyláz a hasnyálmirigy váladékában is előfordul, ennek segítségével dolgozza fel a szervezet a még nem hidrolizált keményítőt, vagy annak átalakulási termékeit maltózzá, mely a szintén jelenlévő maltáz hatására glükózt eredményez. A májban szintén van amyláz, mely a benne felraktározott glükogént alkalomadtán hidrolizálja. A vér, a lymphá és a chylus, továbbá az izzadmányokban is van diasztáz. Egyáltalában alig vizsgáltak még eddig olyan állati szövetrészt meg, mely a keményítő hidrolizására tehetetlen lett volna. A tejben és a vizeletben szintén vannak diasztázos hatású anyagok.

Diasztáz-tartalmú oldat készítése.

A csirázó árpában, alacsony hőmérsékleten megszáritva, sok diasztáz van. A malátának nevezett terméket megőröljük és belőle 20 g.-nyit 100 cm³ vízbe áztatunk s időnként a tömeget jól összerázzuk. A vásznan keresztül megszárt folyadékot még egyszer papirosszűrőn szűrjük át, vagy még kedvezőbben centrifugáljuk, mire átlátszó oldatot kapunk.

Tisztított diasztáz-készítmény előállítása.¹

5 kg. nagyon hatásos malátát, megőrlése után 15 liter 25⁰-os vízbe áztatunk be. 1 óra hosszat tartó keverés után a tömeget fél óráig állni hagyjuk, majd kendőn lecsurgatjuk és a maradékot kisajtoljuk. A szüredéket és a kisajtott nedvet hideg helyen a lebegő alkotórészek leüleptése céljából állani hagyjuk, majd pedig ismét kendőn keresztül szűrjük. A folyadék egy részében meghatározzuk a diasztázos hatást és egy próbába

¹ S. F r ä n k e l und M. H o m b u r g, Hofmeisters Beiträge f. Chem. Physiologie u. Pathologie. 8. 389—398, (1906).

addig öntünk ismert mennyiségű bázisos ólomacetátoldatot, a míg a diasztázos hatás a szüredékben nem csökken. Az előzetes próbában talált eredmény alapján a kellő mennyiségű bázisos ólomacetátoldattal most már a folyadék főtömegét is kicsapjuk. A kicsapás után a szüredékben ammóniumsulfiddal ólomreakciót kapni nem szabad. A csapadék szüredékét fertőtlenített P u k a l l-féle agyagszűrőn átszűrjük, fertőtlenített edénybe, majd pedig 28° -on hagyjuk thermostátban csekély mennyiségű olyan Frohberg-féle élesztővel állani, mely már előzőleg czukorban szegény és diasztázban gazdag környezethez alkalmazkodott. Az erjedés befejezése után ismét P u k a l l-féle szűrőn fertőtlenített vákuumkészülékben megsűrjük az oldatot és erősen csökkentett nyomás alatt körülbelül 500 cm^3 -re besűrítjük. Ha a folyadék savanyúvá lesz, fertőtlenített calciumcarbonáttal telítjük, majd pedig éppen úgy, mint előbb Frohberg és Logos-élesztőnek a viszonyokhoz alkalmazkodott keverékével újabb erjedésnek tesszük ki. Ezen erjedésre különösen alkalmas olyan élesztő, mely nitrogénhiányt szenved. Az erjedés után az oldatot, mint előbb P u k a l l-agyagszűrőn átszűrjük, vákuumban lehetőleg besűrítjük, majd pedig kénsav fölött vákuumban megszáritjuk. Ilyen módon porszerű készítményt kapunk, mely erjeszthető és redukáló anyagtól teljesen mentes. Az oldatok a művelet alatt valószínűleg egy oxidáz hatására erősen barnulnak. A festékanyag azonban a P u k a l l-agyagszűrőn nem megy át.

Előzetes kísérletek a diasztáz tulajdonságainak megismerése céljából.

Keményítőcsiriz készítése. 20 g. keményítőt $80\text{--}90\text{ cm}^3$ vízzel alaposan felkeverünk, vagy csészében eldörzsölünk s a tömeget 250 cm^3 forró vízbe csepegtetjük, miközben a folyadékot hevesen rázzuk, vagy turbinával keverjük.

Az amyláz keményítőt oldó tulajdonságainak bemutatása. A fent előállított forró csirizt hagyjuk 85° -ra lehűlni és hatásos amylázoldatból 1 cm^3 -nyit keverünk bele. A tömeg gyorsan átlátszó folyadékká alakul, mire felforraljuk. E közben semmiféle hidrolizáló hatást észlelni nem lehet, mert az oldatba jutott keményítő próbája káliumjodidos jódoldattal tiszta kék színeződést mutat.

A keményítő diasztázos hidrolizisét bemutató kísérlet.

Készítünk a fent leírt módon keményítőcsirizt, de csak 10 g. keményítőt használunk ugyanannyi vízhez. Mikor a csiriz $65\text{--}70^{\circ}$ -ra lehűlt, 2 cm^3 malátakivonattal keverjük össze és gondoskodunk róla, hogy a tömeg hőmérséklete állandó maradjon. Kémcsövekben öntsünk $10\text{--}10\text{ cm}^3$ vizet és 2—3 csepp 1% -os káliumjodidos jódoldatot.

Minden 3—4 perc leteltével a hidrolizálandó folyadékból 1—1 cm³-t keverünk össze az egyik kémcső tartalmával. A kísérlet kezdetén tiszta színeződést látunk, majd a további próbáknál átmegy a szín ibolyavörösbe, barnavörösbe, barnába, végül sárgába, nemsokára pedig teljesen kimarad a reakció. Ekkor már a jódreakcióelegy a F e h l i n g-féle oldatot is erősen redukálja, jeléül annak, hogy már máltóz is keletkezett. A folyadékot alkohollal elegyítve, belőle dextrinekből álló csapadék válik le, az alkoholos oldatból pedig elpárologtatva az alkoholt és a maradékot vízben oldva, phenylhydrazinchlorhydráttal és nátriumacetáttal az oszazonok előállításánál leírt módon eljárva, a forró vízben oldható máltoszazonhoz jutunk.

A diasztáz hatásának termékei.

Az enzimekről szóló ismereteinknek nincsen több olyan részlete, melynek a kutatók annyi fáradságot szenteltek volna. Kétségbeejtőn nagy irodalma daczára, még mai napig is oly zavaros a keményítő diasztázos hidrolizisének ismerete, hogy a tömérdek és egymásnak minduntalan ellentmondó adat alapján, tiszta képet alkotni magunknak egyelőre lehetetlen. Pedig elsőrangú tehetségek próbálták ki erejüket és munkabírást ezen a hálátlan feladaton, miből azt vonhatjuk le, hogy a nehézségek, melyek itt a kutatók elé gördülnek, sokkal nagyobbak, sem-hogy a mai módszerekkel elháríthatók volnának. A legnagyobb nehézség abban van, hogy a diasztázos hidrolizis végtermékén: a máltózon kívül közbeeső termékképpen alaktalan anyagok, a dextrinek keletkeznek, melyekkel boldogulni mai napig még nem lehetett. Bonyolultabbá teszi a helyzetet az, hogy ezek az alaktalan közbeneső termékek szakadatlan átalakuláson mennek keresztül, úgy hogy egymás mellett egész sorozata van a különféle anyagoknak, miért is chemiailag jellemezhető termékek birtokunkba nem juthatnak. Bármennyire igyekeztek is a kutatók egységes készítményeket elkülöníteni, ezek a termékek mind magukon viselik a keverékek jellemző bélyegét és szomorú ugyan bevallani, de jól meg-gondolva, mégis igaz az, hogy az a végtelen szorgalom, a mit ebbe a tárgyba befektettek, szizifuszi munka volt és határozott eredményhez nem vezetett.

Egyetlen tény, melyet nem lehetett megczáfolni, de melyet már D u b r u n f a u t 1847-ben tudott, az, hogy a diasztáz hidrolizisének jelentkező cukor egy disaccharid: a máltóz. Valamennyi észlelésnek, melyet ezenkívül a kutatók tettek, híven megjött a czáfolata is.

A leggondosabb vizsgálat tárgya az árpa-diasztáz, vagyis a maláta-amyláz volt. A hol a következőkben tehát külön megjegyzés nincs, a megfigyelések mind a maláta amylázra vonatkoznak. Némely kutató szerint a máltóz mellett még az *izomáltóz* disaccharid is jelentkezik a

hidrolízis termékek között. Az izomáltózt először Fischer Emil állította elő, úgy, hogy glükózt tömény sósav hatásának tett ki közönséges hőmérsékleten. A sósavnak eltávolítása után a cukorkeverékből a túlnyomó részében változatlanul maradt glükózt elerjesztette, a mikor is szirupalakjában a nem erjeszthető izomáltóz visszamaradt. Kristályos alakban még nem ismeretes, csak oszazonja és oszonja révén lehetett megállapítani, hogy új disaccharidról van szó. Arra azonban, hogy ez az izomáltóz a keményítő diasztázos hidrolízisének valóban előfordul, vagy sem, határozottan felelni az eddigi vizsgálatok alapján lehetetlen.

Mittelman kivételével valamennyien, a kik az izomáltóz megjelenését hirdetik, megegyeznek abban, hogy az izomáltóz a diasztázos hatás későbbi szakában maltózzá alakul. Ez a tény magában véve azonban a disaccharidokra vonatkozó eddigi kémiai ismereteink alapján páratlan a maga nemében. Mert az átmenet csak úgy képzelhető, ha az izomáltóz előbb glükózzá bomlik s a glükózmolekulák más módon újra kettőnként összekapcsolódnak.

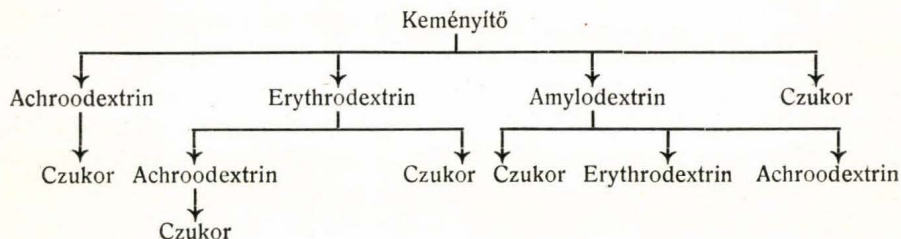
A keményítőn, a maltózon és az izomáltózon kívül keletkező termékeket a *dextrin* gyűjtőnévvel jelölték. Sokan csak egy dextrin keletkezése mellett foglalnak állást s a hidrolízisnél talált termékek különeműségét egyszerűen azzal magyarázzák, hogy a közös dextrin különféle mennyiségű maltózzal létesít egymástól eltérő tulajdonságú keverékeket. Ha a dextrin kolloid voltára gondolunk, a mi elősegíti a hajlandóságot arra, hogy idegen anyagokat vegyen fel magába, ezt a magyarázatot lehetetlenségnek nem találjuk. E mellett foglal állást Maquenne is, a kinek nézetei, ha igazolhatók, világot vethetnek majd a keményítő diasztázos bomlására. A dextrinek sajátjaiban mutatkozó eltéréseket Pottevin is ugyanazon anyag különböző fizikai állapotában keresi.

Mehring szerint két különböző dextrin van a reakciókeverékben, melyeket α és β jellel illet. Az elsőből maltóz lesz a hidrolízis további folyamán, míg a β -dextrin változatlan marad.

Brücke szintén két dextrint különböztet meg a szerint, hogy jó hatására hogyan színeződnek. Tőle származik a még vöröses reakciót mutató *erythrodextrin* és a jóddal már nem színeződő *achroodextrin* elnevezése.

Musculus és Gruber szerint a keményítőtől fokozatosan amylo-dextrin, erythro-dextrin, azután háromféle achroodextrin, végül pedig maltóz létesül. Brown és Heron régebbi munkáikban hét különféle erythro-dextrin és két achroodextrin létezését vették fel. Úgy látszik azonban, hogy Brown saját maga is megijedt a sokféle dextrintől, mert későbbi munkáiban mindig a mellett foglalt állást, hogy csak egyféle dextrin keletkezik.

A legújabb vizsgálatok közül J. Moreau-é érdemel legtöbb figyelmet.¹ A hidrolízis közben keletkező termékek elválasztását részlegesen alkohollal, illetve báryumhydriddal végezte. Kísérleteinek eredményéből arra következtet, hogy a diasztáz hatásának kezdetén mindjárt egyidejűleg többféle dextrin és cukor létesül; később a nagy molekulású dextrinek szétbomlanak alacsonyabbrendű dextrinekre illetve cukorra. Föltevéseit a következő mintával érzékíti:



Az enzimhatás befejezése után még ismeretlen összetételű maradékot talált.

Magasabb hőmérsékleten több dextrin keletkezik, mint hogyha a hidrolízist 50—60°-on eszközöljük, a mikor több a cukor. Ezt a jelenséget azzal magyarázták, hogy a hidrolízist két különböző enzim okozza. Különösen Wijsman² volt szószólója ennek az elméletnek, melyet diffúziós kísérletekkel is támogatott.

A kettős enzimelmélet mellett szól az is, hogy a baktériumok közül egynehány (pl. *Bacillus amylobakter*.) a keményítőt csak dextrinné alakítja; viszont olyan baktériumok is vannak, melyek a keményítőt nem támadják meg, ellenben a dextrinek hidrolízisét elvégzik. Ilyen a Grimberty és Ficquet-féle *Bacillus tartricus*, továbbá a Friedländer-féle *Bacillus Pneumoniae*.

Vannak, a kik a diasztáz keményítőt oldó hatására is külön enzim jelenlétét tételezik fel.

A hasnyálmirigyváladék hatásának kitett keményítő hidrolízisekor végső terméként glükóz és dextrin 5:4 arányban jelenik meg; a glükóz jelenléte a váladékban jelenlévő maltáznak tudható be. Némelyek szerint a reakciókeverékben maltóz, sőt izomaltóz is található. Valószínű, hogy a reakció termékei eleinte ugyanazok, mint a normális diasztázos hidrolízisnél.

A nyálamyláz hatására Moreau szerint ugyanazok a termékek keletkeznek, mint az arpából készült diasztáz okozta hidrolízisnél, csak hogy

¹ J. Moreau, Annales de la Soc. Roy. des Sc. méd. et natur. de Bruxelles 12, 3. füzet (1902). Wochenschrift f. Brauerei 22, 37, 49, 72 (1905).

² Wijsman, Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas. 9. 1. (1890).

a jelenlévő maltáz még bonyolultabbá teszi a reakciót. A régebbi szerzők adatai meglehetősen zavarosak és egymással ellentmondanak.

Az ügy fontosságára való tekintettel szükséges a nagy zavar daczára, hogy a kiválóbb kutatók kidolgozta módszereket és azok termékeit főbb vonásokban megismerjük.

Amylodextrin.

Gyakran összetévesztik az oldható keményítővel. Az amylo-dextrin sajátosságait Meyer A.¹ olyan készítményeken tanulmányozta, a melyeket keményítőből híg savak hatására létesített. A készítmények jellemző adatai azonban nem egyeznek meg azokkal, a melyeket a keményítő diasztázos hidrolizisénél kaptak.

Lintner és Düll² szerint amylo-dextrint úgy készítünk, hogy keményítőt diasztázzal hidrolizálunk, de a hatást még akkor szakítjuk meg, a mikor a termék tisztán kék jódreakciót mutat. Most a kb. 20%-os oldatot melegen forró alkohollal elegyítjük úgy, hogy az oldat kb. 10%-ossá legyen és 40%-os alkoholt tartalmazzon, majd a tömeget azon melegen üveggyapoton keresztül szűrjük. Kihülés és hosszabb állás után tisztátalan amylo-dextrin válik ki, melyet 10%-os oldatban 40—30%-os alkohollal kicsapva még vagy 8—10-szer tisztítunk. Meyer szerint ez a termék még mindig nem tiszta amylo-dextrin.

Ez fehér por, mely 20—30%-os vizes oldatból szferokristályokban válik ki. Hideg vízben kevésbé, meleg vízben minden arány szerint oldódik. Tömény oldatok kihüléskor tejüvegszerű tömeggé merevednek meg, mely forró vízben többé nem oldódik teljesen. $[\alpha]_D = 196^\circ$; nem redukál; káliumjodidos jódoldattal sötétkékre színeződik.

Erythro-dextrinek.

Ezzel a névvel azokat a dextrineket jelölik, melyek jódoldattal már nem kék, hanem vörös, vagy vörösbarna színeződést öltenek. Legtöbbször ilyen néven keverékeket irtak le, melyekben különböző dextrin és amylo-dextrin fordult elő ellenőrizhetetlen mennyiségben. Így magyarázhatók az irodalomban annyira eltérő adatok. Az, hogy achroo-dextrinek 0.5% amylo-dextrin hozzákeverése után élénkvörös színeződést mutatnak, az erythro-dextrinek létezése ellen szól. Minthogy azonban még újabb munkálatokban is úgy szerepelnek egyes erythro-dextrinek, mintha többé-kevésbé egységes anyagok volnának, egyelőre meg kell emlékeznünk róluk.

¹ A. Meyer, Untersuchungen über Stärkekörner. Jena 1895.

² C. J. Lintner és S. Düll, Berichte. 26, 25, 33, (1893).

I. Erythrodextrin.¹

Keményítőt hidrolizálunk diasztázzal addig, a míg a vörösbarna jódreakció elötműnik. A felforralt oldatot melegen alkohollal telítjük, melegen szűrjük, majd vákuumban besűrítjük. A maradékból a cukrot úgy távolítjuk el, hogy melegen előbb 30%-os, majd 20%-os oldatban 70%-os alkohollal annyiszor elegyítjük, a míg a maradék forgatótehetsége $[\alpha]_D = 189^\circ$ -ra emelkedett. Az achroodextrin eltávolítása végett most 10%-os oldatban 70–60%-os alkohollal, majd 5–2%-os oldatban 60–50%-os oldattal való ismételt frakcionált kicsapás következik. Meyer szerint ez a termék csak tisztátalan amylo-dextrin. Gyakran szferokristályokban válik le meleg alkoholos oldatából. Vízben rendkívül könnyen oldódik, míg 60%-os alkoholban oldhatatlan. $[\alpha]_D = +196^\circ$, redukálótéhetsége 3%-a a maltózénak. Jódreakciója vörösbarna. Diasztázos hidrolízis következtében achroodextrinné alakul.

II α és II β erythrodextrin.²

Az I. erythrodextrin anyalúgját besűrítjük és ismételten 20%-os oldatban 80–75%-os forró alkohollal elegyítjük. A maradék forró vizes oldatból részben szferokristályok alakjában válik ki, miáltal két részletet nyerünk. A kristályos termék a II α erythrodextrin; könnyen oldódik forró vízben, nehezen hidegben; $[\alpha]_D = +194^\circ$, a redukálótéhetsége: R = kb. 8%-a a maltózénak. Híg oldatban tömény jóddoldattól vörösbarnára színeződik. Különösen kénsav jelenlétében tisztán kékre színeződik. A nem kristályos részlet tartalmazza a II β erythrodextrint. 75%-os alkoholban oldhatatlan. $[\alpha]_D = +194^\circ$, redukálótéhetsége a maltózénak csak 8–8.5%-a. A jódd reakciója tömény jóddoldat és kénsav jelenlétében is vörösbarna.

Achroodextrinek.

Jóddoldattal már nem színeződnek. Az eddig legfontosabb és legjobban jellemzett achroodextrinek a következők.

I. Achroodextrin.³ (I. Határdextrin.⁴)

Keletkezik oldható keményítőből, malátaoldat hatására szobahőmérsékleten, vagy pedig keményítőből 70%-on, illetőleg szobahőmérsék-

¹ C. J. Lintner és S. Düll, Berichte. 26, 25, 33, (1893).

² Henderson, Münchener disszertáció 1897; H. Mittelmeier, Mitteil. d. österr. Versuchsstation. S. Brauerei u. Malzerei in Wien, 1895, 7. füzet.

³ Lintner és Düll, Berichte. 26, 2533 (1893). C. Lintner jun., Pharm. Centralhalle, 35, 509 (1894).

⁴ Syniewski V., Liebigs Annalen. 324, 234 (1902).

leten. Talán az amyloextrin és az erythroextrinek is diasztáz hatására I. achroodextrinné alakulnak.

Lintner és Düll szerint úgy készítjük, hogy 100 s. r. keményítőt 500 s. r. vízzel és 5—6 s. r. levegőn szárított malátával addig hagyunk állani, a míg a tömeg jódeakciót többé nem mutat, mire a megszárt oldatot sziruppá sűrítjük be. Az erythroextrinek eltávolítása végett a tömeget most 20—30%-os oldatban 60—70%-os alkohollal oldjuk ki, s az oldatot vákuumban bepárologtatjuk. A maradékot annyiszor pállítjuk 90—85%-os alkohollal 20%-os oldatban, a míg a feloldott anyag redukáló hatása annyira csökkent, hogy az a maltóz redukálószer hatásának 20%-ával egyenlő. Ezután a szakgatott kioldást addig folytatjuk 10%-os oldatban 80%-os alkohollal, a míg az oldat és a maradék forgató- és redukálóképessége állandó marad. Az így keletkezett termék nedvszívó, vízben rendkívül könnyen oldható, mely az oldat megfagyasztásakor nem válik ki. Forró vizes alkoholból gyakran szferokristályok válnak ki; 70%-os alkoholban alig oldódik. Gyengén édes ízű. $[\alpha]_D = +192^\circ$ (10%-os vizes oldatban), redukálószer hatása 10%-a a maltózénak. Ólomacetat 10%-os oldatában változást nem okoz. Nagy fölöslegű baryumhidroxid-oldat kicsapja; 5%-os oldatából tannin nem választja le. A Barfoed-reagenst (10 g. rézacetat, 150 g. víz + 1.59 g. jégecet) rövid ideig tartó forraláskor nem redukálja.

Maltodextrin.

Azonos a Syniewski-féle *II. határdeextrinnel*,¹ a Ling és Baker-féle α -maltodextrin-nel,² a Lintner-féle *II. achroodextrinnel*.³ A Brown és Morris-féle maltodextrin Schiffer szerint dextrin és izomaltóz, Pottevin szerint dextrin és maltóz keveréke. Ost szerint a maltodextrin az egyetlen átmeneti terméke a diasztázos hidrolízisnek.

Keletkezik oldható keményítőből, előzőleg 78°-ra fölmelegített malátaoldat hatására; friss malátaoldat is átalakítja 60—65°-on a keményítőt maltodextrinné. Ling és Baker akkor kapták, mikor a keményítőnek 70°-nál végbemenő diasztázos hidrolízisét félbeszakították.

Syniewski előírása szerint keményítőcsirizt autoklávban 12 óra hosszat 140°-ra melegítünk s a lehült oldatba olyan malátakivonatot keverünk, melyet előzőleg 78°-ra melegítettünk fel. A tömeget szobahőmérsékleten hagyjuk állani, a míg a jódeakció eltűnik, a mihez kb. 216 óra szükséges. Az oldatot vékony sugárban forró vízbe öntjük, úgy, hogy az elegy hőmérséklete 80° alá ne süllyedjen. A megszárt és besűrít-

¹ V. Syniewski, Liebigs Annalen. 324, 222 (1902).

² Ling A. R. és Baker J. L., Journal chem. Soc. 71, 517 (1897).

³ Lintner és Düll, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 17, 339 (1894).

tett tömeget 90°-os alkohollal elegyítjük, mire nyúlós szirup válik le. Ezt kevés forró vízben feloldjuk és 24 órai állás után a szüredéket vékony sugárban 95%-os alkoholba öntjük, miközben az alkoholt turbina segítségével élénk mozgásban tartjuk. 72 órai folytonos keverés után a kivált csapadékot 85—87°-os forró alkohollal elegyítjük, miközben a legnagyobb rész feloldódik. Az alkoholos oldatot vákuumban besűrítvén, a szirupot annyi 96°-os alkoholba öntjük, hogy az oldatban a művelet végén még legalább 90°-nyi alkohol legyen. Csapadék válik le, melyről az anyalúgot leöntjük és friss 96°-os alkohollal pótoljuk. Végül az oldatban maradékot vákuumban megszáritjuk. Alaktalan, kissé sárgás, kevés hamut tartalmazó por. Ize édeskés. 80°-os forró alkoholban elég könnyen, 90°-os alkoholban nagyon nehezen oldódik. $[\alpha]_D = 180-183^\circ$ a különböző szerzők adatai szerint, míg a redukáló tehetsége a szerzők szerint sokkal nagyobb eltéréseket mutat, mert az a máltózra vonatkoztatva 26.5 és 43 között váltakozik. Ez is mutatja, hogy az előállítási módszerben csekély változtatások nagyon eltérő termékekhez juttatnak.

A maltodextrint friss maláta kivonat közönséges hőmérsékleten gyorsabban, előzőleg 78°-ra felmelegített kivonat lassabban máltózzá és γ -maltodextrinné alakítja át. Utóbbit a friss maláta kivonat ismét máltóz és izomáltóz keverékévé bontja, úgy hogy végeredményben $\frac{2}{3}$ máltózt és $\frac{1}{3}$ izomáltózt találunk a reakciókeverékben. Az izomáltóz képződését Ling és Baker-nak azonban nem sikerült észlelnie. Felső erjesztésű élesztő a maltodextrint nem erjeszti el, más erjesztőgombák azonban pl. a *Saccharomyces ellipticus* és a *Pasteurianus* erjeszthető máltózzá hidrolizálják. Ez a jelenség okozza az ú. n. utóerjedést; ilyenkor tehát a maltodextrinből utólag keletkező máltóz, helyesebben a máltózból keletkező glükóz indul erjedésnek.¹ S a z-féle élesztő 27 nap alatt 3.01%-ot, Froberg-féle élesztő 66 nap alatt 13.9%-ot, Logos-féle élesztő 18 nap alatt 75.4%-ot erjeszt el belőle.²

γ -Maltodextrin.

Azonos a Ling és Baker-féle β -maltodextrinnel és a Prior-féle III. achroodextrinnel.

Syniewski³ szerint úgy állítható elő, hogy maltodextrinből 8 s. részt 3%-os oldatban 1 s. r. friss maláta kivonattal szobahőmérsékleten egy órahosszat hagyunk állni, majd a folyadékot forró vízbe öntjük, még pedig oly vékony sugárban, hogy a tömeg hőmérséklete 80° alá ne

¹ Brown és Morris, Journ. Chem. Soc. 47, 527 (1885); E. R. Morris, Chemisches Centralblatt. 1892. I. 352.

² Prior, Zeitschr. f. angew. Chemie, 13, 464 (1900).

³ Syniewski V., Liebigs Annalen. 324, 230 (1902).

hüljön. A felfőzött és besűrített folyadék szüredékét tovább párologtatjuk be és 96%-os alkohollal elegyítjük, majd a keletkező csapadékot több ízben mindig hígabb, végül 90%-os forró alkohollal oldjuk ki. A maradékot 85–87%-os, majd 87–89%-os alkohollal ismételten kifőzve, az egyesített oldatokat besűrítjük és 96%-os alkoholba öntjük, a csapadékot alkohollal tisztítjuk és csökkentett nyomás alatt megszárazítjuk.

Alaktalan, kissé sárgás por, melynek kellemes, elég édes íze van. 85%-os alkoholban könnyen, 90%-osban nehezen oldódik. Forgatótehetsége 8.5%-os vizes oldatban $[\alpha]_D^{20} = 172^\circ$, redukálótéhetsége $R = 42.7\%$ a máltózénak. Friss maláta-kivonat hatására máltózra és állítólag dextrinözra bomlik. A dextrinöz az izomáltózzal ellentétben erjeszthető. A γ -maltodextrint Logos-féle élesztő teljesen elerjeszti, míg a *Saccharomyces apiculatus* reá hatástalan. Valószínűleg ez az a dextrin, mely a czefrék erjedési fokának különbözőségeit okozza a szerint, hogy a használt élesztőfajta meg tud-e birkózni vele vagy nem.

*Állandó dextrin.*¹

Némely szerző szerint ez az egyetlen dextrin, mely a keményítő diasztázis hidrolizisénél keletkezik.

Előállítására céljából 2–3 kg. burgonyakeményítőt 16–20 l. vízzel csirizzé alakítunk, majd oldattá változtatjuk. A kb. 12–15%-os keményítőt tartalmazó oldatot eleinte 65–70°-on, később 15–20°-on hagyjuk normál maláta-kivonattal állni. Utóbbi úgy készül, hogy levegőn száradt malátát 6 óra hosszat pállítunk szobahőmérsékleten 2.5 s. r. vízzel, s a szüredékből a keményítőoldatnak minden literéhez 30–60 cm³-t elegyítünk. A diasztázis hidrolizist addig hagyjuk lefolyni, a míg az oldat forgatótehetsége $[\alpha]_D = +150$ és redukálótéhetsége $R_{\text{máltóz}} = 80$, lett. Most a szüredékből 2400 g.-ot sziruppá sűrítünk be, azután 7 liter 90%-os alkohollal elegyítjük úgy, hogy a folyadékban 75–80%-os alkohol legyen. Kb. 200 g. dextrin kiválik. Az anyalúgot leöntjük, besűrítjük s a maradékot 6 liter 95%-os alkohollal rázzuk, majd állni hagyjuk. A most kicsapódott dextrinek az előbbi 200 g.-mal együtt 650 g.-ra szaporodnak és 42% máltózt tartalmaznak. A nyers terméket 6 liter vízben oldjuk és 15 g. élesztővel 10 napig erjedni hagyjuk. A szüredék bepárologtatása után 540 g. terméket kapunk, melynek forgatótehetsége $[\alpha]_D = 182.5^\circ$. A tömeget addig hígítjuk vízzel, a míg az oldat sűrűsége 1.043-ra csökken miután 2 óra hosszat 400 cm³ maláta-kivonat hatásának tesszük ki 50°-nyi hőmérsékleten; a felfőzött folya-

¹ H. T. Brown és J. H. Millar, Journal Chem. Soc. 75, 315 (1899); H. T. Brown és Heron, Journal of the Chemical Society 35, 596 (1879).

dékot lehülése után 11 g. élesztővel 5 napig hagyjuk erjedni, miközben a súlyvesztés 3⁰/₀. Most két ízben 85⁰/₀-os alkohollal kicsapjuk, a maradékot pedig 6-szor 85⁰/₀-os és 3-szor 80⁰/₀-os forró alkohollal oldjuk ki. A kivonások tartama minden esetben egy-egy nap. A besűrített alkoholos oldatok még 380 g.-nyi anyagot tartalmaznak. A maradékot 1 liter vízben oldjuk és különböző töménységű alkohollal annyszor csapjuk ki részlegesen, a míg a termékek forgató- és redukálótéhsége állandó.

Láthatjuk ebből a példából, hogy milyen lélekölő munka egy dextrinnek tisztítása s még ha az állandó forgató- és redukálótéhséget el is érte a készítmény, nem tudhatjuk bizonyosan, vajjon egységes anyaggal van-e dolgunk, mert ez alaktalan testeknél mindig kétes.

Fehér, alaktalan, gummiszerű, selyemfényű test, mely vízben minden arány szerint oldódik. Forgatótéhsége $[\alpha]_D = 195 - 195.7^\circ$. A redukálótéhsége R (máltóz) = 5.7—5.9.

Máltóz



A keményítő diasztázos hidrolizisekor keletkező egyetlen kristályos termék a maltóz disaccharid. Legújabb időkig a keményítőtől diasztáz hatására, rendes körülmények között 80⁰/₀-nál több maltózt előállítani nem sikerült. Brown és Morris számtalan kísérleténél már 66—68⁰-nyi maltóz keletkezése után, rendkívül meglassult az enzimés folyamat sőt teljes szünet is állott be. A keményítő 20⁰/₀-ának megfelelő mennyiségű maláta alkalmazásakor ez az állapot már 10—20 percz múlva bekövetkezik. Ha a diasztázoldatot használat előtt 12 óra hosszat 68⁰-ra melegítik, 30⁰/₀-nál több maltózt előállítani nem lehet. 80⁰/₀-nál magasabb termelést csak rendkívül kedvező és meg nem határozható körülmények között lehetett elérni.

Természetes tehát, hogy Maquenne-nek és munkatársainak az a kísérleti eredménye, hogy a keményítő hidrolizisének úgyszólván számított mennyiségű maltóz keletkezik, meglepő volt.

A maltózkeletkezés akkor teljes, ha egyrészt közönséges hőmérsékleten végzik a hidrolízist, másrészt a keményítőcsirizt kénsavval közömbösítik, a malátaoldathoz pedig annyi kénsavat elegyítenek, hogy az methylo-ranget használva indikátorul $\frac{1}{3}$ vagy $\frac{2}{5}$ -nyire legyen közömbösítve. Ez által az enzim hatásossága rendkívül fokozható. A hőmérsékletet 20⁰-on tartani nem feltétlenül szükséges; 50⁰-on is jó eredmény érhető el, ha a kénsavat óvatosan alkalmazzuk. Az oldat közömbösítése különösen abban az időpontban nagyon előnyös, a mikor a jódreakció megszűnik.

Az amylóz könnyen alakul át máltózzá, az amylopektint azonban, mint azt a tiszta amylopektinnél végzett kísérletek mutatták, csakis az aktivált diasztáz támadja meg. A régebbi kísérleteknél úgy látszik mindig, csak az amylózt cukrosították el, míg az amylopektin dextrinek alakjában maradt vissza.

Izomáltóz.

Lintner és Düll¹ leírása szerint az izomáltózt úgy állíthatjuk elő, hogy 250 g. keményítőt 250 cm³ olyan malátaoldattal keverjük, a mely 1 s. r. levegőn szárított malátából, 4 s. r. vízzel készült. A tömeget két liter 75^o-os vízbe keverjük, majd a folyósodás beállta után 0.5 g. diasztázzal még 3 óra hosszat, vagy addig tartjuk 69—70^o-on, a míg a jódreakció teljesen eltűnik s az oldat forgatótehetsége $[\alpha]_D = +143^o$ -ra csökkent. Most a folyadékot sziruppá sűrítjük be, 80%-os alkohollal elegyítjük, majd pedig annyi forró alkoholba öntjük, hogy az oldott anyag minden súlyrészére 10 s. r. 80%-os alkohol jusson. A kihűlt átlátszó szüredéket besűrítjük, 20%-os oldatban élesztővel elerjesztjük, a szüredéket ismét besűrítjük, majd pedig annyi 85%-os alkohollal elegyítjük, hogy 3 g. anyagra legalább 100 cm³ oldat jusson. Kihülés után a tömeget megsűrjük, besűrítjük és 90%-os forró alkohollal elegyítjük. A kihűlt szüredék most úgyszólván csak izomáltózt tartalmaz s az alkohol eltávolítása után a vízben oldott tömegből izomáltózphenyloszazon létesíthető.

Meg kell jegyeznünk, hogy ezen leírás daczára az izomáltóznak a keményítő diasztázos hidrolizisének termékei között való előfordulása még nagyon kétséges. A főbaj az, hogy a disaccharidok forró vízben oldható oszajonjai, ha a közös oldatban belőlük többféle van jelen, annyira módosítják egymás olvadáspontját és oldhatóságát, hogy elválasztásuk nem biztos. A dolog tisztázását csak akkor remélhetjük, ha majd egyszer sikerül magát az izomáltózt esetleg kristályalakban leválasztani. Azonban az eddig ismeretes módszerek segítségével erre nincs remény.

A Lintner-féle izomáltózzal azt tartják, hogy bár nehezen, de erjed. Ez a tény is ellenkezésben áll a Fischer-féle izomáltóz tulajdonságaival.

A keményítő enzimes hidrolizisének keletkező termékek elválasztása és meghatározása.

Bár olyan módszer, mely a dextrinek és cukrok elválasztására minden esetben alkalmas és egyszerűen elvégezhető volna, nem ismer-

¹ Zeitschrift f. angewandte Chemie 1892, 263; Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 26, 2540 (1893).

retes, éppen a dextrinek kellemetlen tulajdonságainál fogva, mégis elég jó tájékozódást nyújt a bomlási termékek felől a Moreau-féle eljárás.¹ Ez a dextrinek bányumsóinak oldhatóságbeli különbségén, továbbá a dextrineknek alkoholban való oldhatatlanságán alapszik.

Az eczetsavval megsavanyított reakcióelegyet felfőzzük, megsűrjük, a szüredéket közömbösítjük, majd pedig apró részletekben hidegen telített báryumhydroxidot adagolunk bele, mire csapadék válik ki. Időnként próbákat veszünk az elegyből, melyeknek szüredékébe káliumjodid-oldatban oldott jódot cseppentve, megfigyeljük, hogy mikor megy át az amyloextrin kék reakciója az erythroextrin barnásvörös színeződésébe. A mikor az átmenet határozottan észlelhető, a tömeget leszűrjük és szüredékébe tovább adagoljuk a báryumhydroxidot, a míg a próbák szüredéke jóddal nem színeződik. Ekkor a levált erythroextrin szüredékébe alkoholt öntünk, mire az achrooextrin is leválik s az oldatban már csak a redukáló cukrok maradnak. Az elkülönített háromféle dextrin-csapadékokat hígított eczetsavban oldva, mindegyik részletben megismételjük báryumhydroxiddal a kicsapást annyiszor, hogy a jóddal végzett kémlésnél lehetőleg tiszta színreakciókat kapjunk. Ha ezt a pontot elértük, a báryumcsapadékokat hígított eczetsavban feloldjuk és a folyadékból alkohollal csapjuk ki a dextrineket, melyeket vákuumban 80°-on szárítva, megmérünk.

Ha tiszta diasztázzal dolgoztunk, az utolsó szüredékben csak máltóz van s így egyszerűen Fehling-féle oldattal titrálva megállapíthatjuk mennyiségét. Ha azonban nyállal, hasnyálmirigyváladékkal stb. dolgozunk, melyek diasztázon kívül máltázt is tartalmaznak, a máltóznak és a glükóznak mennyiségét külön-külön kell ismernünk. Erre a célra legalkalmasabb, ha a berlini kísérleti sörgyárnak 538. sz. élesztőjét használjuk, mely a glükózt elerjeszti, a máltózt ellenben érintetlenül hagyja;² vagy pedig választhatunk a *Saccharomyces Marxianus*, *S. exiguus*, *S. Ludwigi*, *S. Saturnus*, *S. anomalus* fajok között, melyek egyikében sincsen máltáz.³ Természetes, hogy az élesztőkultúráknak nagyon tisztáknak kell lenniök, mert különben megbízhatatlan eredményt kapunk.

¹ Moreau J., Ann. de la Soc. roy. des Sciences méd. et nat. de Bruxelles, 12, 1—117 (1903). Wochenschrift f. Brauerei, 22, 37, 49, 72 (1903).

² Emmerling O., Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 34, 2207 (1901).

³ Armstrong E. F., Proceedings of the Royal Society, 76. B. 600—605 (1905).

A diasztáz mennyiségi meghatározása.

A diasztáz mennyiségi meghatározására ezidőszert legalkalmasabb a Wohlgemuth-féle¹ kolorimétriás módszer, mely a keményítőnek, illetve a dextrineknek jóddal szemben tanúsított színreakcióján alapszik. Kémcsősorozatot megtöltünk geometriai haladványban növekedő mennyiségű enzimoldattal, azután mindegyikbe 5 cm^3 1%-os keményítőoldatot öntve, rögtön jeges vizet tartalmazó edénybe állítjuk, hogy a diasztáz korai hatását megakadályozzuk. Mikor valamennyi kémcsövet megtöltöttük, a csöveket tartó kosarat bemártjuk $38\text{--}40^\circ$ -os vízfürdőbe és abban rendszeren $30\text{--}60$ percig hagyjuk állni. Ezután az összes próbát ismét lehűtjük jeges vízzel, miközben a diasztázos hatás megakad. A kémcsöveket most megtöltjük majdnem színültig vízzel és mindegyiket 1 csepp $1/10$ normál jóddalattal összerázzuk és megfigyeljük a csövek tartalmában bekövetkező színeződést. Látni fogjuk, hogy a teljesen sárgaszínű oldattal telt kémlecsövek után vöröses, majd ibolyás, végül tisztán kék próbák következnek. Az első kékes próbát nevezzük Wohlgemuth javaslatára *limes*-nek, az előtte való már vörösbe játszó próba pedig a diasztázos hatás mértékének számbeli kifejezésére szolgál, mert ebben a próbában már az összes keményítő legalább is dextrinekké alakult. Ennek a próbának enzim mennyiségét 1 cm^3 enzimoldatra kifejezve adjuk és azt számítjuk ki, hogy 1 cm^3 -nyi enzimoldat hány cm^3 keményítőoldatot hidrolizált.

Vegyük alapul a következő példát:

Enzimoldat	5 cm^3 keményítőoldatban előidézett hatás
1.0 cm^3	sárga
0.64 „	„
0.4 „	sárgászöld
0.25 „	vörös
0.16 „	kékesvörös <i>limes</i>
0.1 „	kék

A *limes* előtt való próbában tehet 0.25 cm^3 enzimoldat 5 cm^3 keményítőoldatot úgy hidrolizált, hogy benne a keményítő kék jódreakciója eltűnt. 1 cm^3 oldat tehát 20 cm^3 keményítőoldatot hidrolizál. Minthogy példánkban a kísérlet 35 percig tartott és 40° -on folyt le, a kísérlet eredményét a következőleg jelöljük. „D“ a diasztázos hatást jelöli.

$$D_{35'}^{40} = 20.$$

A módszer helyes kivitele céljából még néhány megjegyzés szükséges. A keményítőoldat készítésére alkalmas a Kahlbaum-féle old-

¹ J. Wohlgemuth, Biochem. Zeitschrift, 9. 1—9 (1908).

ható keményítőkészítmény, melyet előbb hideg vízzel keverünk el gondosan, majd pedig vízfürdön folytonos keverés közben oldunk fel. A 40°-on való melegítést rövid tartamú kísérletnél (1 óra) mindig végezhethjük vízfürdőben, csak hosszabb ideig tartó kísérletnél szükséges thermostatot használni. Utóbbi esettel különösen az állati szervek vonadékaiknak vizsgálatánál állunk szemben. Ilyenkor az is előfordulhat, hogy az erősen proteintartalmú oldat a keményítőoldattal csapadékot ad s e csapadékban foglalt keményítő nem vehet részt kellőképpen a diasztázos hidrolízisben. Ennek elkerülése végett a próbákat a melegítés folyamán szünet nélkül rázógéppel rázatjuk, miáltal a kísérleti eredmények kiértékelhetővé válnak.¹

A diasztáz mennyiségének meghatározására különösen a gyakorlatban nagyon használatos a Lintner-féle² eljárás, melyet újabban Wirth³ módosított.

A malátából oldatot készítünk, még pedig úgy, hogy a megőrölt tömegből 25 g.-ot 500 cm³ vízzel oldunk ki 6 óra hosszat közönséges hőmérsékleten. Az átlátszó szüredékből a vizsgálatra zöld maláta esetében 2 cm³-t, világosra aszalt malátából 4 cm³-t, sötétre aszalt malátából pedig 8 cm³-t veszünk és azt 100 cm³ 2%-os keményítőoldathoz elegyítve a próbát 1/2 órára 20°-on hagyjuk állni. Most 10 cm³ 1/10 normál nátriumhydroxidot elegyítve a folyadékhoz, feltöltjük 150 cm³-re és miután előzetes kísérlettel Fehling-féle oldat segítségével megtudtuk, hogy mennyi az oldat máltóztartalma, a Bertrand-féle eljárás szerint meghatározzuk benne pontosan a cukrot.

Ha szilárd állapotú készítmények hatásának megállapításáról van szó, a diasztázból 0.2—0.5 g.-ot 50 cm³ vízben oldunk és belőle 0.1; 0.2 1.0 cm³-t elegyítünk 10—10 cm³ 2%-os keményítőoldathoz. Miután a próbák tartalmát jól felráztuk, hogy tartalmuk egyenletesen legyen eloszolva, 1 óra hosszat szobahőmérsékleten hagyjuk állani. Most mindegyik csőbe 5 cm³ Fehling-féle oldatot öntve, beállítjuk a próbákat közös forró vízfürdőbe és megfigyeljük, hogy melyik csőben vált ki az összes réz cuprooxid alakban. Második kísérletsorozatban a diasztázmennyiségeket még csekélyebb különbséggel lehet a próbákban elosztani, miáltal a talált eredmény pontosságát növeljük. Lintner szerint a diasztáz mennyiségét úgy fejezzük ki, hogy 100-al azt a diasztázos hatást jelöljük, a mikor 0.1 g. enzimnek 250 cm³ vízben való oldatából 0.3 cm³ a 10 cm³ 2%-os keményítőoldatból éppen annyi máltózt képez, hogy a folyadék 5 cm³ Fehling-féle oldatból minden rézet cuprooxid alakban válasszon le.

¹ E. Starkenstein, Biochem. Zeitschr., 24, 191—209 (1910).

² Lintner, Journal f. prakt. Chemie N. F. 34, 386 (1886); 36, 481 (1886/87).

³ Wirth Chr., Zeitschr. f. das gesamte Brauwesen, 31 421 (1908).

A kísérleteknél könnyen készíthető és mindig egyforma tulajdonságú keményítőoldatra van szükségünk. Ez úgy készül, hogy burgonyakeményítőt 7·5%-os sósavval öntünk le, majd 7 napig tartó állás után a tömeget hideg vízzel addig mossuk, míg a savanyú kénhatás teljesen eltűnt, majd pedig a keményítőt levegőn megszáritjuk. A készítmény forró vízben könnyen átlátszó folyadékká oldódik.

Az amyláz tulajdonságai.

Az eddig legtisztább amylázkészítmény, melynek előállítása Fränel és Hamburg módszere szerint történt (lásd előállítás), a fehérje-reakciók közül csak Millon-oldattal vörösödik meg nagyon gyengén, a Molisch-reakciót erősen, a pentózok reakcióit gyengén mutatja. Közömbös sókkal vizes oldata csak gyenge csapadékot létesít, a savak és az ólomacetát oldata ellenben erős zavarodást okoz. Ez a készítmény tehát nem protein, sőt még kolloidtermészete is kétséges, a mennyiben a rendesen használt csapadékreakciók éppúgy, mint az elektromos viselkedés nem mutatja a kolloidoknál tapasztalható jelenségeket. Csak az ultramikroszkópos vizsgálat szól a kolloidtermészet mellett. Kolloidális vashydroxid kicsapja a diasztázt, de egyúttal tönkre is teszi. Talcum, vérszén, kaolin és alumíniumoxid adszorbeálják az amylázt. Amphoter anyag, melyben azonban a pozitív jellem erősebb. Pergamentpapiroson keresztül lassan diffundál. Phenolphthaleinnal szemben közömbös oldatban porcellánszűrőn keresztülhatol, methyloangeval szemben közömbös oldatban azonban alig.

A tiszta készítmény rendkívül érzékeny; alkohol, aceton, sőt már víz is káros hatással van rá.

A növényi eredetű diasztáz száraz állapotban 150°-ra is fölmelegíthető, 158°-on hatásosságát veszíti. Vizes oldatban már 80°-on tönkremegy; ez az érték a diasztáz eredete szerint nagyon ingadozik. Keményítő jelenlétében a káros hatás magasabb hőmérsékleten következik be. Az optimum 60—65° körül van. A nyálban előforduló diasztáz állítólag alacsonyabb hőmérsékleten megy tönkre. A különbség azonban a kísérőanyagok hatásának is lehet eredménye. Működési optimuma 50—55°. A folyós levegő hőmérsékletére lehűtve még nem megy tönkre. A hevítés vagy savak által hatástalanná vált nyáldiasztázhoz, ha friss nyálat, vagy a hasnyálmirigy váladékát elegyítjük hozzá, hidrolizáló tehetségét újra visszacapja. A nyálamyláz rázaskor részben elveszíti hatásosságát. Ugyanez történik, ha a nyálat kollodiumhártyában dialízisnek vetjük alá.

A diasztázt tönkre teszi a pepszin, a tripszin azonban nem. A nyáldiasztáznak legkedvezőbb működése 0·0001% sósav jelenlétében

van, 0.015% sósav 40°-on már megakasztja az enzim hatását. Daczára ennek, a nyállal kevert keményítőtartalmú ételek a gyomorban még kb. 2 óra hosszat jelentékeny cukrosítási folyamaton mennek keresztül. Ennek oka az, hogy a megrágott táplálék a gyomorban összeálló csomókat alkot, melyeknek belsejét csak nagyon lassan járhatja át a sósav tartalmú gyomornedv. A nyálban levő amylázra továbbá csekély mennyiségű ecetsav, borkősav előnyös; az oxálsav káros hatású. A szénsav szintén káros, ha az oldat előzőleg közömbös volt, ellenben jelenléte nagyon kedvező, ha a közeg előzőleg gyengén lúgos volt. Szabad alkaliból már 0.005 normáldat erősen csökkenti az enzimhatást. Az árpa-diasztáznak hatását is növeli csekély mennyiségű savnak jelenléte. Maquenne szerint az abban leli magyarázatát, hogy a sav a malátakivonat hosszabb állása folytán önként is bekövetkező proteolitos folyamatot, mely a keményítő hidrolizisére alkalmasabb közeget teremt, meggyorsítja.

A növényeredetű diasztázokra szénsav és szerves savak csekély mennyisége előnyös. Alkáliák nyomokban is károsak. A legtöbb kísérlet, melyet különféle sókkal végeztek, végeredményben az ionkoncentrációnak megzavarására és a közeg lúgossá válására vezethető vissza. Alumíniumacetat és vanadinsók jelenléte kedvező. Borax, timsó, arzénsók károsak. Csirázó magvak főzete, továbbá aminosavak jelenlétében a diasztázos hatásnak gyorsabb lefolyását észlelték. A kedvező hatás azonban bizonyára abban áll, hogy ezek az anyagok a keményítőnek a szennyezéstől származó gyenge lúgosságát ellensúlyozzák. Valóban Ford vizsgálatai szerint teljesen tiszta keményítő hidrolizisére aszparagin jelenléte nincs hatással. 2.5%-os formaldehyddat a diasztáz hatására állítólag nem káros.

Phosphátok jelenléte úgylátszik a folyamatra nélkülözhetetlen. Különös, hogy a konyhasó rendkívül gyorsítja a nyáldiasztáz hatását. Ez a körülmény a keményítőnek az állati szervezetben való feldolgozására bizonyára nagy fontosságú.

Bármiféle keményítőből készült csirizt a nyáldiasztáz egyforma gyorsasággal hidrolizál; a nyers keményítőszemek feldolgozásában ellenben különbségek láthatók. Nyers burgonyakeményítő sokkal lassabban oldódik, mint tengerikeményítő, a többi fajták e két végső érték közé esnek. A szemek megőrlése rendkívül megkönnyíti a diasztáz behatolását és ennél fogva gyorsabb hidrolizis áll be.

A hasnyálmirigydiasztáz hőmérsékleti optimuma 30—45°. Az enzim a különböző keményítőfajtákat különböző sebességgel hidrolizálja és a sorrend ugyanaz, mint a meiyet a ptialin hatásánál lehet észlelni. Wohlgemuth szerint az enzim sókkal szemben teljesen úgy viselkedik, mint a nyálamyláz.

Az epeváladék a mellett, hogy saját maga is diasztázos hatást fejt ki, a növényi és állati eredetű diasztázt egyaránt élénkebb működésre készteti. Az epe ezen tulajdonsága annyira szembetűnő, hogy már 4 mg. epe a hasnyálmirigy váladékában levő diasztázt észrevehetően aktiválja. Az epének nagymennyiségű jelenléte ellenben a diasztáz hatását lassítja. Wohlgemuth-nak sikerült kimutatni, hogy az aktiválást előidéző anyag az epe dialízise alkalmával legnagyobbbrészt elvész, továbbá hogy az aktiváló anyag állja a főzés hőmérsékletét és alkohollal kivonható. A mostani fogalmaink szerint tehát a kérdéses anyag enzim nem lehet.

Ibolyántúli sugarak különösen az árpadiasztázra nagyon károsak; éppen ily hatásúak a zöld sugarak. Ezzel szemben a vörös, narancsszínű és kékszínű sugarak rövid ideig gyorsítják a diasztázos hidrolizist. A mulékony kedvező hatás is csak látszólagos, mert Green szerint ez onnan származik, hogy a zümogént a sugarak hatásos enzimmé alakítják át.

Egyenáram rendkívül káros, nagyon gyenge váltakozó áramok kedvezőek a diasztázos hidrolizisre.

Az amyláz, ha bizonyos mennyiségű keményítőre már hatott, s azt hidrolizálta, nemsokára gyengül a hatása. Ha most újabb mennyiségű keményítőoldatot elegyítünk a reakcióelegyhez, a diasztáz felfrissült erővel hidrolizálja ismét a keményítőt. A kísérletet ugyanazzal a diasztáz-mennyiséggel akár háromszor is megismételhetjük, ha a hidrolizis hőmérsékletét nem emeljük magasra (60—65°-ra).

A keményítő diasztázos hidrolizisének sebességét már többször megvizsgálták, de mindég más és más eredményre jutottak a kutatók. A reakció bonyolult voltánál fogva ez nem is csodálatos. A relatív sebesség eleinte csökken, kb. a míg a keményítőnek 30%-a át nem alakult máltózzá, majd pedig úgyszólván végig állandó marad. Ha az enzimet hevítés útján tönkretesszük és friss enzimet teszünk a tömegbe, a reakció nem folyik úgy le, mint első esetben.

Az árpában jelenlevő amyláz czukrosító hatását Kirchhoff (1815) észlelte. Dubrunfaut (1823) már lényeges sajátosságait ismerte, Payen és Persoz pedig készítmény alakjában is megkísérelték az enzim leválasztását és a diasztáz nevet adták neki.

Az emberi nyál keményítőt oldó és czukrosító tulajdonságát Leuchs (1831) észlelte először és Schwann (1836) vizsgálta meg tüzetesebben. Cohnheim különítette el először (1865). Berzelius a nyálban foglalt szerves anyagot nevezte el ptyalinnak, mely nevet később a nyálban jelenlevő amyláz megjelölésére használtak.

A hasnyálmirigyben és váladékában levő diasztázt Bouchardat és Sandras (1845) fedezte fel.

Az amyláz enzimnek a gyakorlatban rendkívül fontos szerep jut, mert segítségével cukrosítják el a szeszgyártás céljaira feldolgozandó burgonyát és az egyéb keményítőtartalmú nyersanyagot. A sörgyártásnál szintén nagy fontosságú, mert az árpában levő keményítőt is ezzel az enzimmal cukrosítják el. A gyakorlatban használt amylázt a csirázó árpaszemekből állítják elő. Az árpát e célból alkalmas berendezésű szekrényekben csiráztatják, mikor az amyláz rendkívül felszaporodik a fiatal növényben, hogy a szemben jelenlévő keményítőt értékesíteni tudja. A kicsirázott árpát malátának nevezik. A malátát vagy alacsony hőmérsékleten szárítják (zöldmaláta), vagy pedig, sörgyártás céljaira, megaszalják. A maláta készítésének részletesebb megismertetését és az amyláznak alkalmazását a sör- és szeszgyártásnál nem irom le, hanem utalok Kosutány Tamás, Mezőgazdasági kémiai technológia című művére, melyben a szerző ezeket a dolgokat széles alapon és nagy szakavatottsággal tárgyalja.

Inuláz. (Inulináz.)

Az inulin polisaccharid hidrolízisét okozza, miközben d'-fruktóz keletkezik.

A virágos növények némely csoportjában: Compositae, Campanulaceae, Lobeliaceae, Goodeniaceae, Violaceae, több monokotyledon növényben jellemző tartaléktáplálék az inulin. Különösen a földalatti szervekben halmozódik fel; többször előfordul a fészkes virágúak fészkeiben is, a növény magvában azonban soha sem találták. Elszáradt növények szárában is jelen van. Ősszel a *Pyrethrum* földalatti szárában majdnem 60%, az inulájében 44% inulin; nagy mennyiséget tartalmaz a csicsóka (*Helianthus tuberosus*) gumója is, melyet éppen inulintartalma miatt tenyésztnek. A moszatok között is található szórványosan az inulin. (*Acetabularia mediterranea*, *Polyphysa peniculus*).

Az inulin fehér, keményítőhöz hasonló por. Vizes oldatokból, vagy alkohollal kicsapva apró golyócskákban válik ki, melyek a poláros fényvel szemben hatástalanok. Forró vízben könnyen, hidegben nehezen oldható. Rézoxidammoniumban duzzadás nélkül oldódik. Forgatótehetsége 6·5%-os vizes oldatban $[\alpha]_D = -38\cdot8^\circ$.

Az inuláz hatásának felismerésére a forró vízben oldott inulint hagyjuk 10°-ra lehűlni s akkor a vizsgálandó enzimkészítménnyel elegyítjük. Ha a reakcióelegy nemsokára redukcióra alkalmas lesz, az inuláz jelenléte valószínű. Ilyenkor a folyadék állandó optikai megfigyelését is végezzük új próbában, melylyel könnyen követhetjük a fruktóz keletkezését.

Minthogy az inulinnak a növényvilágban mint tartaléktápláléknak olyan szerepe van, mint a keményítőnek, érthető, hogy a legtöbb növényben az inuláznak az inulin értékesítése tekintetében fontos feladat jut, mert

általa kerül az inulin az anyagforgalomba és általa válik lehetővé az, hogy a hidrolízis következtében keletkező fruktóz ott, a hol szükség van rá, új sejtek létesítésénél közreműködjék. A fészkes virágúakon kívül találtak inulázt néhány penészgombában is: *Aspergillus niger*, *Penecillium glaucum*, *Penecillium camemberti*. Az állatvilágban is számos olyan eset van, a hol inuláz jelenlétét kell elfogadnunk. A kerti csiga emésztőnedve, a selyemhernyó álczája, a cserebogár, a keresztespók, a szobalégy, mind hidrolizálják az inulint. A magasabbrendű állatok bélcsatornájában inulázt nem találtak, itt a gyomorban előforduló sósav alakítja a könnyen bomló inulint fruktózzá.

Az inuláz tulajdonságaival és működésének feltételeivel főleg S. R. Green¹ és E. m. Bourquelot² foglalkoztak. Kitűnt, hogy a gumókban rendesen nincs inuláz jelen, az enzim csak alkalmilag és csakis azokon a helyeken keletkezik, a melyeken új szövetképződés indul meg. Mesterségesen kényszeríthető azonban a gumó rá, hogy inulázt termeljen. Így az articsóka gumóját elegendő összevagdálva egy napig 35°-on hagyni, hogy azután vizes oldata az inulint fruktózzá alakítsa. A gumóból előzetes melegítés nélkül készült oldatok teljesen hatástalanok. Ezek a tények arra engednek következtetni, hogy a gumóban állandóan van jelen olyan anyag, a melyből kedvező körülmények között az enzim keletkezik. Műszóval élve azt mondjuk, hogy az inuláz a gumóban zimogén alakjában van meg.

Az inulinból könnyen keletkezik az enzim hatására d-fruktóz, a közbeeső termékekről azonban nagyon keveset tudunk. Green a *Helianthus tuberosus* inulinjának hidrolizisekor a fruktózon kívül a reakció tömegből nem redukáló, rhomboid vagy hosszúkás lemez, vagy pedig túszerű kristályokban előforduló anyagot is talált, mely nézete szerint átmeneti termék volna. A kérdéses anyag hideg vízben könnyebben oldódik, jobban is dializál, mint az inulin, eltérő továbbá a kristály alakja és vizes alkoholból is kevesebb szükséges oldására, mint az inulinnak.

Az inuláznak a keményítőre nincs hatása. Működésére legkedvezőbb 0.001%-nyi sósav jelenléte, erősebb sav káros, 0.2%-nyi sósav 40°-on teljesen tönkreteszi. Lúgok jelenléte szintén kedvezőtlen, 1.5%-os szóda-oldat már egy óra alatt tönkreteszi az enzimet.

Közönséges hőmérsékleten az enzim többet bír ki, mint 40°-on.

A mikor házinyulak bőre alá inulint fecskendeztek be, nemsokára az állatok vérsavója az inuláz hatását megakasztó tulajdonságokat mutatott.³ Ebben az esetben tehát nyilván *antiinulinázzal* van dolgunk.

¹ J. R. Green, *Annals of Botany*, 1, 223—236 (1888).

² E. m. Bourquelot, *Compl. rend.* 116, 1143—1145 (1893). *Compl. rend. de la Soc. de Biol.* 45, 653—654 (1893).

³ T. Saiki, *Journ. of biol. Chemistry*, 3, 395—462 (1907).

Czelluláz. (Cytáz.)

A cellulózt, különösen pedig a hemicellulózokat hidrolízis folytán elbontja.

Előfordul számos fát pusztító gombában, penészgombákban: *Penicillium glaucum*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus Wentii*, *Mucor racemosus*. A baktériumok egy része szintén tartalmaz cellulázt. A növények pollentömlőjében és talán fiatal növények szíkleveleiben is jelen van. A felsorolt esetek rendszerint hemicellulózok hidrolizására vonatkoznak, melyeket ásványsavak is sokkal könnyebben támadnak meg. A tipusos czellulóznak, mely pl. a vattában vagy a szűrőpapirosban van jelen, enzimés folyamat következtében csak a legújabb időben észlelték hidrolízisét. A kerti csiga emésztőnedvében van állítólag olyan enzim, mely a cellulózt is feloldja, ha az a *Schweitzer*-féle oldószerből (rézoxid-ammonia) frissen van kicsapva. Az enzim egyéb sajátságairól vajmi keveset tudunk. Felismerésére az oszazonpróba alkalmas.

Semináz.

Az enzim a *mannogalaktan* anhidridot hidrolizálja mannózra és galaktózra. Előfordul a szentjánoskenyér magvában, a malátában, számos pillangósvirágú növénynek, mint a luczerna, ákác, aranyeső stb. magvában és a kerti csiga emésztőnedvében. Felismerhető az oszazonpróbáról.

Xylanáz.

A *xylán*-nak nevezett pentozánt bontja el xylóz keletkezése mellett. Jelen van a kerti csiga emésztőnedvében, továbbá számos növény-nyel táplálkozó haslábuában, sok rovar bélcsatornájában. Azok a mikroorganizmusok, a melyek különösen növényevők bendőjében és belében a növényrészek feldolgozásában részt vesznek, szintén tartalmazznak xylanázt. Felismerésére az oszazonpróba a legalkalmasabb. A xylán maga könnyen előállítható bükkfareszelékből, ha azt előbb tisztítás céljából hígított 1—2%-os ammoniával hagyjuk 1—2 napig állni, majd 5%-os nátronlúggal oldjuk ki két napig és a lúgos levet alkohollal és sósavval kicsapjuk.

Pektináz.

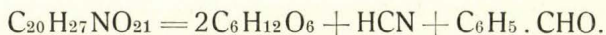
A pektinanyagokat hidrolizálja redukáló cukrok keletkezése közben. Jelen van a malátakivonatban és a *Bacillus carotovorus* mikroorganizmusban. Előállítására céljából a malátát 30—35°-nál megszáritjuk, megőröljük és 12 óra hosszat chloroformtartalmú vízzel lúgozzuk ki, majd a szüredéket alkohollal kicsapjuk, és a csapadékot éterrel mosva, gyorsan megszáritjuk vákuumban kénsav fölött. Csekély mennyiségű

sav jelenléte már káros; 10 perczig tartó 62°-ra való melegítés után tönkremegy. A pektináz megakadályozza a pektinanyagok pektázos meg-
alvadását. A pektin előállítása céljából túlerett körték levéből oxálsav-
val kicsapjuk a calcziumot, tanninnal pedig a proteineket és a szüredéket
alkohollal elegyítve nyerjük a pektint. Megismételvén a feloldást, ki-
csapást, a pektinkészítményt tisztíthatjuk. Felismerésére legjobb az
oszázonpróba.

Glükozidokat bontó enzimek.

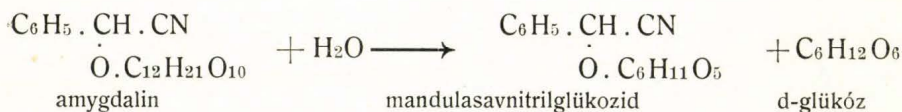
Emulzin (Amygdaláz) (régi neve Szinaptáz).

Az emulzin jellemző tulajdonsága, hogy az amygdalin glükozidot
2 molekula glükózra és 1 molekula d-benzaldehycyanhidrinre hidroli-
zálja. Utóbbi tovább bomlik hidrogéncyanidra és benzaldehydra. Vég-
eredményben tehát az amygdalin a következő egyenlet értelmében
alakul át:



Az amygdalin előfordul a keserű mandulában, a legtöbb prunusfaj
magjában: cseresznyemagban 0·82%; szilvamagban 0·96%; almamag-
ban 0·6%; őszibarack magjában 2·35% amygdalin van. Vízből 3 mole-
kula vízzel rhombos prizmákban kristályosodik. 80%-os alkoholból 2 mol.
vízzel fénylő pikkelyekben válik ki. Közömbös vizes oldata kesernyész
ízű. $[\alpha]_D = -41^\circ 31'$. 12°-on 12 s. r. vízben oldódik, forró víz minden
arányban oldja, elég könnyen oldódik alkoholban, oldhatatlan éterben.
A Nessler-féle kémlőszer eleinte sárgavörös, majd barnavörös csapa-
dékot idéz elő vizes oldatában; melegítésre a csapadék színe nem
változik.

Az amygdalin szerkezetére nézve már Schiff sejtette, hogy a
glükozid a benzaldehycyanhydrin-nek egy disacchariddal való vegyü-
lete. Fischer E.¹ szerint a disaccharid közel áll a máltózhoz,²
a mennyiben a megszáritott élesztő vizes oldatának hatására a glükozid
egyszerűen egy molekula d-glükózt veszít, a benzaldehycanhydrin-
maradék pedig a disaccharid második glükóz molekulájával még kap-
csolatban marad a mandulasav nitrilglükozid (benzaldehydcyanhydrin-
glükozid) alakjában.



¹ Fischer E., Berichte, 28, 1508 (1895).

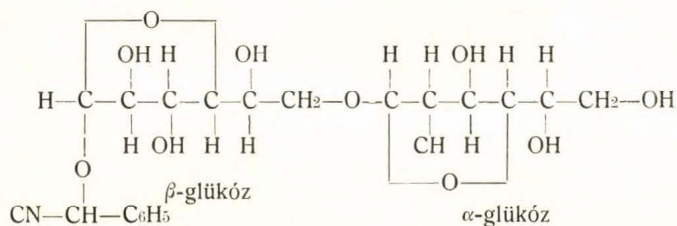
² Máltóz maga nem lehet, mert a máltóz emulzin hatására nem bomlik el;
Auld szerint α -, β -diglükóz az amygdalinban kötött disaccharid.

A mandulasavnitrlglükózid fizikai tulajdonságaiban ugyan nagyon élesen különbözik az amygdalintól, kémiai magaviselete azonban teljesen megegyezik az amygdalinnal. Így emulzin hatására éppen úgy mint az amygdalin d-glükózra, benzaldehydre és hydrogécyanidra bomlik. Mindössze a glükóz mennyisége félakkora, mint az, mely az amygdalin hidrolizisekor felszabadul.

A mandulasavnitrilglükozid sok forró chloroformból színtelen tűkben válik ki. 140⁰-on összeomlik, 147 és 149⁰ között pedig teljesen megolvad. Forgatóhatsége 8·25⁰/₀-os oldatban $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -26\cdot9^0$. Íze sokkal keserűbb mint az amygdaliné. Hideg vízben, alkoholban és acetonban könnyen oldódik, forró eczetérből kb. 20 s. r., meleg chloroformból kb. 2000 s. r. szükséges feloldásához.

A mandulasavnitrilglükozidnak könnyű keletkezése enzim hatására valószínűvé tette, hogy a természetben is előfordul. Valóban meg is találta Hérissé a *Cerasus Padus* fiatal hajtásában, Power és Moore pedig a *Prunus serotinában*.

Auld szerint az amygdalin szerkezete a következő, melyben az α - és β -glükózból létesült disaccharid szerepel

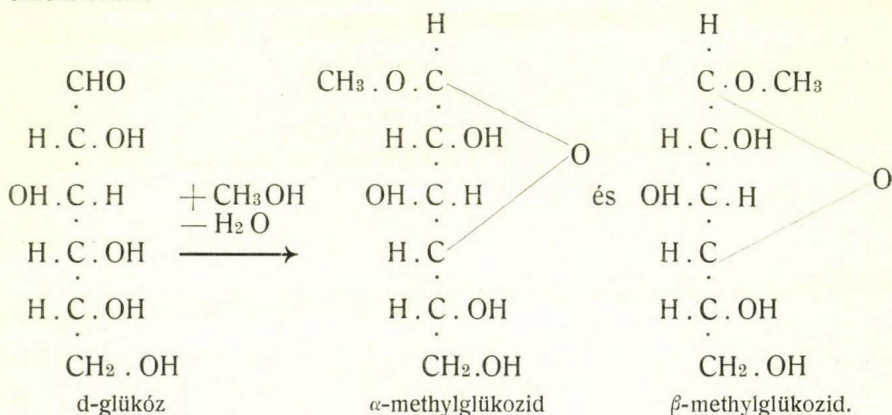


Az emulzin a növényvilágban nagyon elterjedt. Gyakran fordul elő felső erjesztésű élesztőkben, számos fán élősködő gombában: *Polyporus sulfureus*, *betulinus*, *lacteus*, *Collybia fusipes*, *radicata*, *Phallus impudicus*, *Xylaria polymorpha*, *Fuligo varians*; néhány penészgombában: *Penicillium glaucum*, *camenberti*, *Aspergillus glaucus*, néhány baktériumban: *Bacillus emulsinus*, *thermophilus*, a *Diphtheritis* és *Colibacillus*okban; zuzmókban: *Cladonia pixidata*, *Peltigera canina*, *Usnea barbata*. A Rosaceák és a legtöbb hüvelyes vetemény magjában, a bodza levelében, a *viburnum* és más *Caprifoliaceák* levelében, a *Verbena officinalis* szárában, a *gentiana* gyökerében, a ribizli, némely lilium és orchidea gyökerében megtalálható. Majdnem valamennyi gummiban jelen van az emulzin. Az állati szervezetben is több ízben bebizonyították jelenlétét. Megtalálható a tengeri csillagok és sünöknék bél-

¹ E. Bourquelot, *Compte rend. de la Soc. de Biol.* 45, 804—806 (1893).
C. r. 117, 383—386 (1893). E. Rouge, *Centralblatt f. Bakt., II. Abt.*, 18, 403—417,
587—607 (1907).

csatornájában, számos csiga, kagyló emésztőnedvében, pókokban, hangyabábokban, cserebogarakban, paizstetvekben. Előfordul a házinyúl veséjében, az emberi placentában, talán a ló, házinyúl és a nyúl májában.

Az emulzin fontos alkalmazást talál, minek magyarázata abban rejlik, hogy az emulzin nem annyira különleges, hanem inkább csoportkémszer. Fischer Emil előállította egész sorozatát a mesterséges glükozidoknak, az által, hogy az egyszerű cukrokat alkoholokkal száraz sósav hatására egymáshoz kapcsolta. Ugyancsak simán jutott a glükozidokhoz akkor is, mikor a cukrok acetohalogen származékait a megfelelő alkohol jelenlétében ezüstcarbonat hatásának vetette alá, mikor a glükozid acetylszármazéka állott elő, melynek lúgokkal való elszappanosítása után, a szabad glükozid keletkezett. A vizsgálatok kiderítették, hogy a glükozidkeletkezésnél egy-egy egyszerű cukorból két különféle sztereoizomer glükozid keletkezésére van alkalom, melyeket Fischer az α és a β jellel különböztetett meg egymástól. A sztereoizomeriára az ad alkalmat, hogy az eredeti aldehids csoportot tartalmazó szénatom a reakció folytán aszszimetriássá válik. A d-glükózból is két különböző methylglükozid létesül, melyeket a következő szerkezeti képletek érzékítenek:



Mikor Fischer tanulmányozta, hogy a mesterséges glükozidok az enzimekkel szemben miként viselkednek, azt észlelte, hogy az emulzin a β -glükozidokat hidrolizálja, míg az α -glükozidokra hatástalan. Ebből visszafelé arra lehet következtetni, hogy természetes glükozidok közül is azok, melyeket az emulzin bont, a β -sorba tartoznak. Ilyenek volnának a disaccharidok közül a cellobióz, gentiobióz és a tejcukor, a glükozidok közül pedig a salicin, arbutin, coniferin, populin stb. Világos azonban, hogy az ilyen következtetés csak akkor jogosult, ha ugyanaz az enzim hidrolizálja a természetes cukrokat és glükozidokat, valamint a mesterséges β -glükozidokat is. A míg azonban olyan határozatlan keverékekkel

kell dolgoznunk, mint a milyen az emulzin is, nem lehet jótállani érte, hogy a feltevés helyes.¹ Bármilyen értékesek is az emulzinnal, mint csoportkémszerrel elért eredmények, a belőlük levont következtetéseket mégis csak a legnagyobb fenntartással lehet elfogadnunk, annál is inkább, mert mindinkább kezd az a nézet meggyökeresedni, hogy úgyszólván valamennyi glükozidnak és polysaccharidnak különleges hidrolizáló enzime van. E mellett bizonyít az is, hogy az emulzinban is az újabb vizsgálatok szerint legalább háromféle enzimnek, t. i. β -glükozidokat, a tej-cukrot és amygdalint hidrolizáló enzimnek jelenlétét kell feltételezni. A különböző eredetű emulzinkészítmények is nagyon eltérnek hatásaikban. A mandulából készített emulzin nemcsak a β -glükozidokat, hanem a β -galaktozidokat is bontja, az *Aspergillus niger*ből készített termék csak az előbbiekre hat.

Rosenthaler² szerint az emulzinnak még szintézist létesítő hatása is van, melyet különösen a Schuchard-féle készítményeken lehet észlelni. Az emulzin-oldat hatására benzaldehydből és hydrogén-cyanidból d-benzaldehydcyanhydrin keletkezik, mely sósav hatására l-mandulasavvá alakítható:



Kísérleteit úgy végezte, hogy benzaldehydet vizes emulzinoldattal kevert, majd az 5%-os hydrogén-cyanid vizes oldatát gyorsan hozzá öntve, e keveréket 100 cm³-re hígította fel. Ha ez az elegy bizonyos ideig állott, chloroformmal kioldta, a chloroformos oldatot vízmentes nátrium-szulfáttal szárította, esetleg, ha szükség volt rá, kovafölddel átlátszóvá tette és forgatótehetségét meghatározta. Az aktiv benzaldehydcyanhydrinnek l-mandulasavvá alakulása céljából a chloroformos oldatot 1/2 óra hosszat 25 g. füstölő sósavval hagyta állni, majd vízfürdőn a chloroform ledesztillálása után a folyadékot sűrítette, a míg kristályok kezdtek kiválni. Kihülés után a kristályokat leszűrte, vízben oldta és forgatótehetségüket meghatározta.

Kísérletezés közben azt találta, hogy az emulzinoldat hidrolizáló hatása 40°-on való huzamos melegítés közben eltűnik, míg a szintézist létesítő hatás megmarad. Ezért Rosenthaler kétféle emulzint különböztet meg: a szintetizáló *σ*-emulzint, és a hidrolizáló *δ*-emulzint. A *σ*-emulzin más aldehidekből is létesít aktiv nitrileket. Ha a kétféle emulzint tartalmazó oldatot ammoniumsulfáttal telítjük,

¹ E. Fischer és Zemplén Géza. *Liebigs Annalen*, 365, 1—6 (1909).

² Rosenthaler L. *Biochemische Zeitschrift* 14, 238—253 (1908) és 17, 257—269 (1909).

a szüredék csakis δ -emulzint tartalmaz míg a csapadékban főképpen σ -emulzint halmozódik fel. Rosenthaler szerint az emulzinban még egy harmadik anyag is van, melynek feladata optikailag hatástalan enzimek létesítése. Ez az anyag állja a főzést, és talán szervetlen összetételű.

Hatásos emulzinoldatot úgy készítünk, hogy kb. 100 db. édes mandulát leforrázunk, mire a barna héj könnyen leválik, ha a mandulákat ujjaink között kicsit összenyomjuk. Mozsárban lehetőleg jól eldörzsölve a mandulákat, kb. 300 cm³ vízzel felhigítjuk, majd 3 cm³ 10%-os eczetsavval megsavanyítjuk, mire a feloldódott proteinek nagy része kicsapódik. Megszűrés után megvizsgáljuk, hogy a folyadék próbája átlátszó marad-e, ha bele egy csepp 10%-os eczetsavat cseppentünk. Ha még csapadék válnék ki, a folyadékhoz cseppenként 10%-os eczetsavat elegyítünk addig, a míg a szüredékben eczetsavas zavarodás már nem keletkezik.

A Kahlbaum-, Schuchard- és Merck-féle gyárakban előállított emulzinkészítmények rendesen nagyon hatásosak. A készítményből jó oldatokat készíthetünk, ha azt 20 óra hosszat 38°-on toluoltartalmú vízzel kilúgozzuk. Az átlátszó szüredék erőiesen bontja az amygdalint.

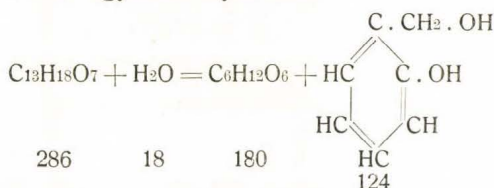
Az emulzin pergamenten át lassan diffundál; könnyen hatol át nyomás alatt kollodiumhártyán, nagyon lassan azonban olyan kollodiumhártyán, mely lecithinnel és cholesterinnel van előkészítve. Ilyenkor előbb a hártya telítődik az enzimmal és csak azután kezd az emulzin áthatolni. Phenolphthaleinre nézve közömbös oldatban az emulzin csaknem veszteség nélkül szűrhető porcellánszűrőn, ellenben rendkívül sokat veszít hatásából olyan oldat, melyet methylorangera nézve közömbös oldatban szívtak át a szűrőn.

Az emulzin működése csak nagyon gyengén savanyú, vagy nagyon gyengén lúgos közegben megy végbe. Lúgok és ásványsavak megakasztják a hidrolizist, mely az oldat közömbösítése után ismét érvényesül. Glycerin, csersav és cserzőanyagok, nyál, hasnyálmirigyváladék, kevésbbé a vérsavó szintén megakasztják a folyamatot. Pepszin teljesen tönkréteszi az emulzint, a tripszin kevésbbé, a papaiotin jelenléte alig árt. Rádiumsugarak az emulzin hatását lassan csökkentik. A működésnek hőmérsékleti optiuma 40 és 50° között van. Oldatban az emulzin többnyire 70°-on, vagy kevéssel a fölött tönkrémeget, némelykor 20 percig kell 80—82°-ra melegíteni, hogy hatását elveszítse. Az élesztőben levő emulzin már 55—60°-on elpusztul. A száraz készítmény több óráig elbirja, hogy 100°-on melegítsük.

Az emulzin segítségével a glükozidok minőségét és mennyiségét már közvetlenül a növények alkoholos kivonatában is meg lehet határozni optikai úton.

Tegyük fel, hogy a salicin vizes oldatával van dolgunk. Ez a glükozid balra forgat és a Fehling-féle oldatra hatástalan. Ha emul-

zint keverünk az oldathoz és kellő ideig várunk, a folyadék a salicin helyett két anyagot tartalmaz: d-glükózt és saligenint (salicylalkoholt: o-oxybenzylalkohol). Az előbbi jobbra forgat, az utóbbi hatástalan. Az átalakulás folyamán tehát a forgatóképesség csökken, majd jobbra csap át, az oldat pedig redukálótéhséget nyer. A végbemenő kémiai folyamatot a következő egyenlet fejezi ki:



Vegyünk a salicinből 2·86 g.-ot 10 cm.³ vízben oldva; az oldat 2 dm.-es csőben polarizálva — 3·71°-nyit fog forgatni; mert a salicin forgatóképessége

$$\begin{aligned}
 [\alpha]_D^{20} &= -64\cdot9^\circ & \text{és} \\
 \frac{64\cdot9^\circ \times 2 \times 2\cdot86}{100} &= -3\cdot71^\circ
 \end{aligned}$$

Emulzines hidrolízis után az oldat 100 cm³-ében 1·80 g. d-glükóz és 1·24 g. saligenin lesz. A forgatótehetség meg fog felelni az 1·80%-os d-glükózoldaténak, vagyis

$$+ \frac{52\cdot5^\circ \times 2 \times 1\cdot8}{100} = +1\cdot89^\circ,$$

mivel +52·5° a d-glükóz forgatótehetsége.

Mikor a rendszer kezdőállapotából a végsőbe jutott, a forgatótehetség 3·71° + 1·89° = 5·60°-kal változott meg. Ekkor a redukciótehetség mértéke 1·80 g. d-glükóznak megfelelő. Ha kiszámítjuk azt a d-glükózmennyiséget, mely egy foknyi forgatóképességváltozásnak felel meg, akkor azt találjuk, hogy 0·321 g. d-glükóz képződik mindannyiszor, a mikor az oldat forgatóképessége egy fokkal megváltozik.

Ez a szám a salicinglükozidot tökéletesen jellemzi, még egyéb kísérőanyagok jelenlétében is, úgy hogy segítségével a salicin felismerhető és mennyisége is meghatározható, mert hiszen a képződött d-glükóz mennyisége és a forgatótehetség változása arányos a jelenvolt salicin mennyiségével. Főkéllék az, hogy salicin mellett ne legyen az oldatban egyéb emulzin hatására bomló anyag, mely azután elfödne a reakciót.

Hasonló jellegzetes értéket minden glükozidra nézve kiszámíthatunk, vagy pedig kísérletileg meghatározhatunk. A számítást vagy a salicin példáján bemutatott módon végezzük, vagy pedig a

$$q = \frac{100 \text{ g.}}{2Rm + 105 \text{ g.}}$$

képlet segítségével jutunk a jellemző adathoz. A képletben q a keresett

érték, m a glükózid molekula súlya, R a forgatótehetsége, g pedig a glükózid molekulasúlynyi mennyiségéből képződő d-glükóz mennyisége.

A jellemző számot, q -t Bourquelot után *enzimolitos redukciótényezőnek* nevezzük. A szám az oldat 100 cm³-ében képződött, mg.-okban kifejezett d-glükózmennyiséget adja meg, mely 2 dm.-es csőben egy foknyi forgatóképességváltozás alkalmával válik szabaddá. Néhány fontosabb emulzinnal bontható glükózid forgatóképességét és enzimolitos redukciótényezőjét a következő táblázat mutatja:

A glükózid		Forgató- tehetség [α] _D ^{20°}	Enzimo- litos redukciótényező
n e v e	képlete		
Verbenalin	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	— 180·5 ⁰	19
Bakankozin	C ₁₆ H ₂₃ NO ₈	— 206·7 ⁰	108
Gentiopikrin	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	— 200·9 ⁰	111
Aucubin	C ₁₃ H ₁₉ O ₈	— 174·4 ⁰	144
Meliatin	C ₁₅ H ₂₂ O ₉	— 81·9 ⁰	250
Picein	C ₁₄ H ₁₈ O ₇	— 84·0 ⁰	261
Coniferin	C ₁₆ H ₂₂ O ₈	— 66·9 ⁰	278
Sambunigrin	C ₁₆ H ₁₇ NO ₆	— 76·3 ⁰	281
Taxicatin	C ₁₃ H ₂₂ O ₇	— 72·9 ⁰	296
Salicin	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	— 64·9 ⁰	321
Methylarbutin	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	— 63·4 ⁰	326
Prulaurasin	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆	— 53·0 ⁰	359
Isoamygdalin	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	— 51·4 ⁰	425
Amygdalin	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	— 39·0 ⁰	490
Syringin	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	— 17·1 ⁰	570
Amygdonitrilglükózid	C ₁₄ H ₁₇ NO ₆	— 26·9 ⁰	517
Arbutin	C ₁₂ H ₁₆ O ₇	— 63·8 ⁰	700

Ez adatok alapján a természetes glükózidokat azonosíthatjuk, a nélkül, hogy fáradságos módszerekkel esetleg kétes sikerrel járó elkülönítésüket el kellene végeznünk. Meghatározhatjuk továbbá a fejlődés különböző fokozataiban és az év különböző szakjaiban a glükózidtartalmat a kérdéses növényben s akkor dolgozzuk fel a növényrészeket, mikor a glükózidtartalom a biochemiai vizsgálat alapján a legnagyobb s így a glükózidelőállítás legkönnyebb és legjövödelmezőbb. Azt is eldönthetjük, vajjon a kérdéses gyógyszer rossz kezelés, pl. helytelen raktározás folytán nem veszítette-e glükózidtartalmát s ezzel hatásosságát? Ez a biochemiai módszer nemcsak azért fontos, mert segítségével számos értékes anyag felismerése és ennél fogva előállítása vált könnyebbé, és mert még beláthatatlan számú új értékes glükózid fölfedezésére vezethet, hanem azért is, mert ugyanezt a módszert alkalmazhatjuk a polisaccharidok legtöbbjének felismerésére és mennyileges meghatározására is;

mindössze az alkalmas enzimek megválasztásáról és arról kell gondoskodnunk, hogy az esetleg egymás mellett lefolyó reakciók a biochemiai módszer eredményeit ne tegyék illuzóriusakká.

A nádcukorra nézve így sikerült az invertáz alkalmazásával nagyon fontos és könnyen keresztülvihető módszert kidolgozni, mely a nádcukor felismerését és meghatározását lehetővé teszi s egyszerű kivitele mellett igen jó eredményeket szolgáltat.¹ Gyakorlati kivitelére nézve a biochemiai módszer néhány fogást követel meg, így egyrészt az enzim előállítását, másrészt pedig a vizsgálandó folyadékok készítését illetőleg.

*Az emulzin készítése.*² Édes mandulából 100 g.-ot körülbelül egy perczig forró víz alatt tartunk, majd szitára öntjük, s a víz lecsurgatása után a mandulát lehámozzuk. Most mozsárban a tömeget megtörjük, víz hozzáadása nélkül és 200 cm³ folyadékkal hagyjuk 24 óráig szobahőmérsékletnél állni, mely 100 cm³ desztillált víz és 180 cm³ chloroformmal telített desztillált víz keveréke. A vászonzacskón átszűrt 150—160 cm³-nyi folyadékhhoz 10 csepp cc. ecetsavat keverünk, mire a casein kicsapódik. A nedves szűrőpapirosról lecsepegő 120—130 cm³-nyi folyadékot 500 cm³ 95%-os alkohollal kicsapjuk, a csapadékot leszűrjük és alkohol és éter egyenlő térfogatából készült keverékkel kezeljük. Csökkentett nyomás alatt kénsav felett megszáritva, szarunemű, átlátszó lemezeket nyerünk, melyek eldörzsöléskor csaknem szintelen porrá hullanak szét. Száraz, jól zárható üvegben a készítmény nagyon sokáig eláll, a nélkül, hogy hatása gyengülne.

A növényrészek kezelése. Mivel a glükózidokat tartalmazó növényrészek rendesen a bontásukat kiváltó enzimeket is tartalmazzák, a növénykivonatok készítésénél oly eljárást kell alkalmaznunk, mely az enzim hatását teljesen kiküszöböli, mert különben a glükózidvesztéseket el nem kerülhetjük. E célra eddig egyetlenegy módszerrel rendelkezünk, mely az eredményt kellőképpen biztosítja sez a növényrészeknek forró alkohollal való kezelése. Ez akkor vezet sikerre, ha a növényeket lehetőleg egészben, de mindenesetre közvetlenül a durva feldarabolás után azonnal forró alkoholt tartalmazó edénybe juttatjuk, úgy hogy az alkohol forrása e művelet közben meg ne szűnjék. Különösen ügyeljünk, hogy pl. a levelek teljes egészükben kerüljenek a forró alkoholba, mert különben a szétvágáskor szétroncsolt sejtek tartalma összekeveredik s a glükózid az enzimmal érintkezésbe jut. Kisebb mennyiségeknek forró alkohollal való kezelését vízfürdön végezhetjük, tágszájú lombikban. Nagyobb mennyiségeknél igen jó szolgálatokat tesz a kívülről kezelhető csapóajtóval és visszacssepegő hűtővel ellátott készülék, melyet Bourque-

¹ Bourquelot E.: Archiv der Pharmazie, 245, 164 (1907) 1.

² Hérissé H. doktori értekezése, Paris, 1899. — Bourquelot E., Archiv der Pharmazie, 245, 173 (1907) 1.

lot és Hérissé¹ ajánlottak. Miután a növényrészek mind a forró alkoholba jutottak, körülbelül fél óráig tartjuk forrásban az alkoholt, majd a tömeget lecsepegtetjük, lehetőleg apróra szétdaraboljuk s most ugyanabba az alkoholba visszajuttatva, alaposan kifőzzük, leszűrjük és újra meg újra kivonjuk forró alkohollal. Az egyesített alkoholos oldatokat calciumcarbonát jelenlétében csökkentett nyomás mellett beszárítjuk s a maradékot thymollal telített vízben oldjuk s ezzel végezzük a biochemiai próbát. Célszerű mindig annyi cm³ oldatot készíteni, a hány gramm nyersanyagot dolgoztunk fel.

A biochemiai próba kivitele. Az emulzinnek nevezett termék nem egységes anyag. Többek között egyéb enzimeket is tartalmaz, így pl. laktázt, gentiobiázt és gyakran invertázt is. Az előbbi két enzim jelenléte nem káros, mert a növényrészek rendszerint laktózt és gentiobiózt nem tartalmaznak. Az invertáz azonban határozottan zavaró, mert az úgyszólván mindig jelenlévő nádcukrot bontja el s ez által az eredményt módosítja. Hogy az esetlegesen jelenlévő invertáz káros hatását kiküszöböljük, nincs más hátra, mint a nyert kivonatot előzetesen invertáz hatásának kitenni. Ez által a nádcukrot teljesen hidrolizáljuk s így az utána végzendő emulzinos próba hibától mentes lesz. Alkalmas invertáz-készítményt közönséges kenyérelészttől készíthetünk. Ezt előbb kevés sterilizált vízzel elkeverjük, majd a vizet gyorsan leszívjuk s a maradékot 8—10-szeres mennyiségű 95%-os alkohollal keverjük és 12—15 óráig állni hagyjuk. Ekkor az alkoholt leszívjuk s a tömeget 95%-os alkohollal, majd étérrel mossuk, végül 30—35 C⁰-nál megszáritjuk.

A fent nyert oldatunkat, mely rendszerint 250 cm³-t tesz ki (250 g.-nyi kiindulási anyagnak megfelelőleg), két részre osztjuk. Az egyik 50 cm³-nyi folyadék ellenőrző próba. A másik 200 cm³-nyi próbára 1 g. élesztőport keverünk el és miután az üvegeket gondosan bedugaszoltuk, 25—30 C⁰-os költőszekrénybe állítjuk őket. Két nap múlva végezzük az első kísérletet. E célból mindegyik üvegből 20 cm³-t veszünk ki, 4 cm³ ólomcetzoldattal keverjük el s a szüredéket 2 dm.-es csőben poralizáljuk. Nádcukor jelenlétében az élesztővel kevert próba forgatótehetsége már balfelé tolódott el. A próba ellenőrzését a redukció mértékének megállapításával végezzük, melynek eredménye kell hogy a forgatótehetség változásával összevágjon. A próbákat visszatesszük a költőszekrénybe és megvárjuk, időnként ismét meghatározván a forgató- és redukciótehetségeket, míg az értékek már nem változnak. A nyert adatok alapján a jelenlévő nádcukor mennyiségét megállapíthatjuk.

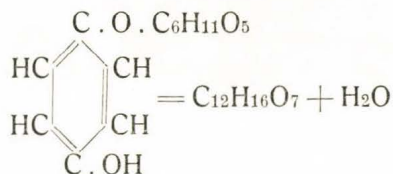
Mikor a hatás befejeződött, a folyadékot 10 perczig forraljuk és lehülés után épp úgy kezeljük emulzinnal, mint azt az invertáz alkal-

¹ Bourquelot E. és Hérissé H.: Journal de Pharmacie et de Chimie. (7.) 145—149. (1911) 1.

mazásánál leirtuk. Az oldatok forgató- és redukcióképességének időnként való meghatározása alapján minden adatnak birtokában vagyunk, melyekből a glükózidot azonosíthatjuk és mennyiségét megállapíthatjuk. Az új módszer kidolgozása után nem késett soká a várt eredmény sem. E módszer segélyével az emulzinnal bontható ismert glükózidok számát megkétszerezték. A verbenalin,¹ meliatin,² sambunigrin,³ eritaurin,⁴ oleorupein⁵ és még számos glükózid fölfedezését az új módszernek köszönhetjük. Eltekintve a szép tudományos eredménytől, melylyel ezek az új anyagok ismereteinket gyarapították, a glükózidok ipari előállítására nézve is nagy haladást jelent e biochemiai módszer. Nagyon sok gyógynövény van, melyet éppen glükózidtartalma miatt használnak. A biochemiai módszer megmutatja a glükózid jelenlétét, mennyiségét, elkülönítése is sikerül s esetleg olcsó szintetikus előállítása is s nem-sokára abban a helyzetben lehetünk, hogy a sok kísérő ballaszttól mentesen, a hatóanyagot magát fogjuk majd használni tetszés szerint.

Fontosabb glükózidok, melyeket az emulzin hidrolizál:

Arbutin



Előfordul az *Arctostaphylos uva ursi*, *Pyrola umbellata*, *Vaccinium vitis idaea*, *Gaultheria procumbens* növényekben. Némelyek szerint a pókokban, a cserebogarakban, a házinyúl, macska és kutya veséjében és májában, továbbá az emberi placentában arbutintbontó különleges enzim, *arbutáz* előfordul. Hatására az arbutin vízfelvétel mellett glükózra és hydrochinonra bomlik a következő egyenlet értelmében:



Hosszú, selyemfényű tűkben válik ki; olvad 188°C-on

$$[\alpha]_D = -64.07^\circ (\text{C} = 4)$$

¹ Bourdier: Archiv der Pharmazie, 246, 272. (1908) 1.

² Bridel M.: Comptes rendus, 152, 1694. (1911) 1. Journal de Pharmacie et de Chimie (7) 4, 49–56. (1911) 1.

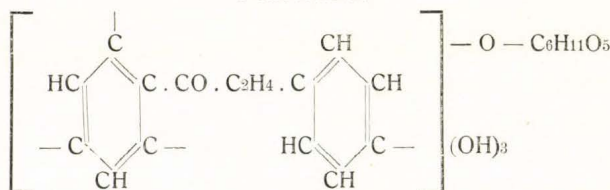
³ Bourquelot E. és Danjon: Archiv der Pharmazie, 245, 200. (1907) 1. — Bourquelot E. és Hérissey H.: Bulletin de la Soc. de Biologie 62, 8.8. (1907) 1.

⁴ Hérissey H. és Bourdier: Journal de Pharmacie et de Chimie (6), 28, 252. (1908) 1.

⁵ Bourquelot E. és Vintilescu: Journal de Pharmacie et de Chimie (6), 28, 303. (1908) 1.

könnyen oldódik forró vízben, kevésbbé, csaknem oldhatatlan éterben. Íze keserű.

Phloridzin.

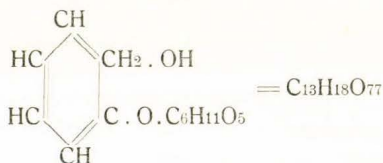


Előfordul az alma, körte, cseresznye, szilvafa törzsének, különösen pedig gyökerének kérgében. Fehér selyemfényű tűkben válik ki; 108°-on vizet veszítve megolvad, 130°-on ismét megszilárdul 170—171°-on bomlás közben másodszor olvad meg. Hidegen 1000 s. r. vízben, melegen minden arányban oldódik; könnyen oldódik alkoholban, acetonban, és pyridinben; nehezen oldódik éterben.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22.5^\circ} = -49.40^\circ + 2.41^\circ \cdot p.$$

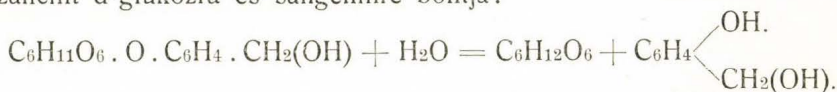
A kerti csiga, a tengeri rák emésztő nedvében és a ló veséjében találtak enzimet, mely a phloridzint úgy bontja, mint az emulzin. Nincs eldöntve, hogy ezekben különleges enzim: a *phloridzináz* szerepel-e, vagy a hatás csak az emulzin jelenlétének tulajdonítható.

Salicin.

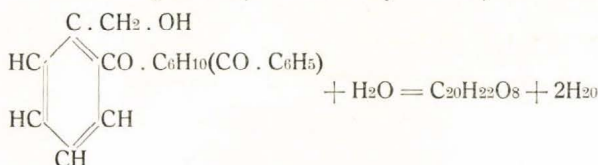


A fűzfélék kérgében, a *Spiraea ulmaria* virágrügyeiben, a *Castoreum canadense*ben. Tűkben, lemezekben, vagy rhombos prizmákban kristályosodik. Olvadáspontja 201°. — *p.* gr. salicintartalom mellett $[\alpha]_{\text{D}}^{15^\circ} = - (67.170 - 0.63 \cdot p)$. 11°-on 29.4 s. r. —, 29°-on 21 s. r. vízben oldható. Forró vízből 0.68 rész szükséges feloldásához. Oldható alkoholban, nehezen oldható éterben. Íze keserű.

Füzek és nyárfák levelében, illetve kérgében, tökmagban, rákok, cserebogarak, hangyabábok kivonatában, ló, házinyúl, sertés és marha májában és az emberi placentában találtak szintén enzimet, mely a szalicint d-glükózra és saligeninre bontja:



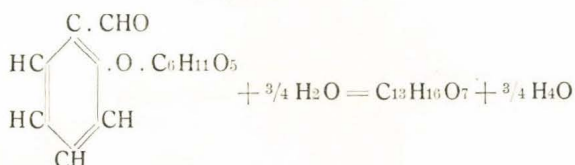
Ma még nem tudjuk, hogy különleges enzim (Saliciláz, Salikáz) vagy csak emulzin-e, a mi a hatást végzi.

Populin. (Monobenzoysalicin).

Előfordul salicin mellett a nyárfafélék kérgében. Finom tűkben kristályosodik, 180°-on olvad. Balra forgató. 15°-on 2420 s. r., 100°-on 42 s. r. vízben oldódik.

Alkoholban könnyebben oldódik mint vízben, éterben nehezen oldható. Keserű ízű.

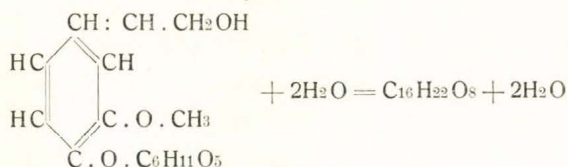
A csiga emésztőnedve szintén bontja a populint, talán különleges enzim, *populináz*-tartalmánál fogva.

Helicin.

Keletkezik a salicin oxidálásakor. Finom, csoportosan elrendezett tűkben válik ki oldatából. 100°-on kristályvizet veszít, 174—175°-on olvad. 8°-on 64 s. r. közönséges hőmérsékletű vízben oldódik. Forró víz könnyen oldja; éterben oldhatatlan. $[\alpha]_D^{20} = -60.43^\circ$ (C = 1.35) vízben. 50%-os alkoholos oldatban $[\alpha]_D = -47.04^\circ$ (p = 3—9). Számos gerinctelen állatban, a macska és házinyúl májában, veséjében, továbbá az emberi placentában enzimet találtak, mely a helicint glükózra és salicylaldehydre bontja.



Talán a készítményben előforduló *hélíkáz* végzi a hatást, nem pedig az emulzin maga.

Coniferin.

A tűlevelűek fájának nedvében, a cukorrépa elfásodott szövetében, a legtöbb fának faanyagában található. Fehér atlaszfényű tűkben válik ki oldatából. 100°-on kristályvizet veszít, 185°-on olvad. 0.6%-os vizes oldatában $[\alpha]_D^{20} = -66.90^\circ$.

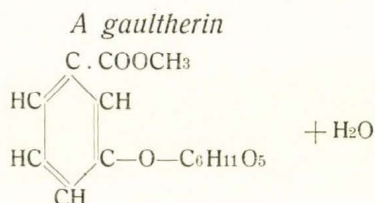
Az emulzin hidrolizálja ezenkívül az oleuropeint, erytaurint, aucubint, verbenalint, sambunigrint, prulaurasint, jasmiflorint, taxicatint, bakankosint és calmatambint.

Gaultheráz. Betuláz.

A gaultherin vagy betulin nevű glükozidot bontja vízfelvétel mellett d-glükózra és a salicylsavmethyleterére:



Előfordul a *Betula lenta* kérgében, a *Polygalában*, a *Gaultheria procumbensben*, a *Spiraea ulmaria* és *filipendulában*. A növények glicerines oldatából alkohol segítségével mint száraz készítmény állítható elő, 230°-ra is felhevíthető változás nélkül.



Előfordul mindenütt, a hol az enzim megjelenéséről szó volt. Színtelen, keserű ízű tűkben kristályosodik, melyeknek nincs határozott olvadáspontjuk. A glükozid vízben, alkoholban és jégezetben könnyen oldódik, éterben, chloroformban, acetonban és benzolban csaknem oldhatatlan. A poláros fényt balra forgatja. A Fehling-féle oldatot redukálja, savakkal épp úgy bomlik, mint a gaultheráz hatására. Emulzin nem hidrolizálja.

Isatáz, indoxyláz vagy indimulsin.

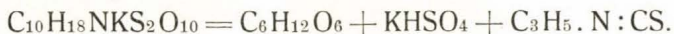
Az indicánt vagy az isatánt hidrolizálja indoxylra és glükózra. Előfordul számos baktériumban, néhány penészgombában, továbbá az *Indigofera tinctoriában*, az *Isatis alpinában* és egyéb indigót szolgáltató növényben. Az enzim vízben oldhatatlan. Működésére legkedvezőbb csekély mennyiségű kénsav jelenléte.

Mirozináz (Myrozin).

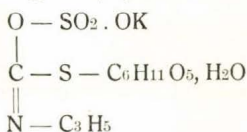
A fekete mustárban levő mustárolajat már valószínűleg Lefèvre (1660), minden bizonnyal azonban Boerhave (1775) ismerte. Boutron¹ és Robiquet-től származik az a fontos észlelés, hogy a mustárolaj a mustármagban nincs jelen és csak akkor keletkezik, mikor a magvakat összetörjük és vízzel felkeverjük. Ilyenkor a myronsavas kálium (sinigrin) és a myrozin, melyek a magnak egymástól távol eső

¹ Boutron és Robiquet, J. Pharm. 17, 279.

sejteiben keletkeznek, érintkeznek. Az enzim hatására a myrónsavas kálium úgy bomlik, hogy d-glükóz, savanyú kénsavas kálium és allylisothiocyanát (mustárolaj) keletkezik belőle.¹



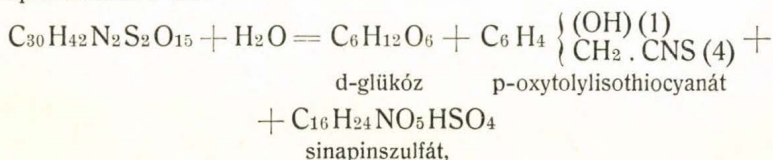
A vegyfolyamat nem árulja el ebben az alakban, hogy a bomlás a víz elemeinek feltételével történék, a myrozint mégis a hidrolizáló enzimek közé soroljuk, mert a reakció csakis vizes oldatban megy végbe. E mellett szólnak G a d a m e r vizsgálatai is, ki a myrónsavas káliumban 100°-on való hevítéssel 1 molekulányi kristályvízvesztéset tudott kimutatni. A *Sinigrin* (myrónsavas kálium) szerkezetét e szerint a



képlet fejezi ki. Vízből kicsi rhombos prizmákban, alkoholból fénylő tűkben válik ki, melyek 126—127°-on olvadnak. Vízen könnyen oldódik; az oldat kémhatása közömbös; íze keserű. Meleg alkoholban könnyen, hidegben nehezen oldódik; éterben oldhatatlan. $[\alpha]_D$ vizes oldatban = — 15° 13'.

A mustáron kívül számos keresztesvirágú növény (Cruciferae) magjában, azonkívül némely Violaceában, Capparidaceában, Tropeolaceában, továbbá a *Carica papaya* gyökerében és levelében, különböző hüvelyes (Leguminosae) magjában, Umbelliferák gyökerében és a hagymában megtalálták a mirozint.

A mirozin nemcsak a sinigrint hidrolizálja, hanem még más hasonló összetételű glükozidot is elbont. Ilyen: a *sinalbin*, $C_{30}H_{42}N_2S_2O_{15} + 5H_2O$, mely az enzim hatására d-glükózt, p-oxytolylisothiocyanátot és sinapinszulfátot ad:



a *gluconasturtiin* $C_{15}H_{20}KNS_2O_9, XH_2O$, melyből az enzim hatására d-glükóz és phenylaethylisothiocyanát keletkezik, azonkívül több más, kellőképpen még nem tanulmányozott glükozid. Nem kerülhetjük el itt sem kiemelni, hogy talán a mirozináz maga különféle különleges hatású enzim keveréke s talán nem ugyanaz az enzim végzi e különféle glükozidok bontását.

¹ B u s s i, Lieb. Ann. 34, 223 (1840). W i l l és K ö r n e r, Lieb. Ann. 125, 257 (1863). — G a d a m e r, Archiv d. Pharmacie 235, 44 (1897).

Az α - és β -methylglükózidra hatástalan.

A mirozináz kimutatása nagyon egyszerű. A vizsgálandó növényrészek levét sinigrinnel elegyítjük. A mirozináz jelenlétét ilyenkor a keletkező mustárolaj szaga árulja el. Ha a növényoldat már előzőleg mustárolaj szagú volna, a mustárolajat enyhe melegítéssel előbb ki kell a folyadékból űzni.

A mirozinázt 1% formalin és 5% hydroxylaminchlorhydrátoldat jelenléte még nem semmisíti meg; 5%-os formaldehyd azonban teljesen megakasztja a hatást. 80°-on gyengül, 85°-on pedig teljesen megakad működése.

Proteineket bontó enzimek.

Proteázok és Amidázok (Proteolitos enzimek).

Az állati és növényi szervezetnek talán legfontosabb alkotó anyagai a proteinek. Legalább arra enged következtetni az, hogy a protoplazma, melyben az életműködések székhelye van, túlnyomó részben proteinekből épül fel, továbbá a proteineket az állatok táplálkozásánál pótolni nem lehet. Természetes, hogy az élő szervezet e proteinek szétbontására — és valószínűleg szintetizálására is — megfelelő enzimeket is termel, melyeknek ismerete azonban sajnos még nem elégséges ahhoz, hogy őket kifogástalan rendszer szerint tárgyalhatnók. Az ok abban rejlik, hogy a proteinek kémiai szerkezetére vonatkozó ismereteink hiányosak, dacára annak, hogy Fischer Emil rendszeres és a szintézissel is bebizonyított vizsgálatai révén tudjuk, hogy a proteinekben aminosavhalmazok vannak, melyekben az aminosavakat egymással úgynevezett *peptid*-kapcsolat köti össze s melyre jellemző, hogy egyik aminosav savgyöke, a másiknak aminocsoportjával kapcsolódik a



jellemző csoportot létesítve.

Azonban nagyon valószínű, hogy a proteinekben a peptid-csoporton kívül az aminosavak, illetőleg peptidek között egyéb előttünk még ismeretlen kapcsolatok is vannak. Hiányos lévén tehát az anyagok ismerete, melyre a még ismeretlenebb enzimek hatnak, nem csoda, hogy az egyes proteázokat és amidázokat röviden és határozottan nem jellemezhetjük minden esetben.

A proteinek enzimés bontásánál nagyon fontos szerepet visz a *pepszin*. Erre az enzimre az jellemző, hogy a változatlan proteineket csak a polypeptidekig hidrolizálja. Nincs eddig egyetlen mesterségesen előállított polypeptid, melyre a pepszin hatással volna. A pepszin tehát minden valószínűség szerint a proteineknek még előttünk ismeretlen kapcsolatait oldja föl. Különben is különbözik az összes többi proteáz-

tól abban, hogy működése csak olyan savanyú közegben élénk, melynek iónkoncentrációja mellett a többi enzim teljesen felmondja a szolgálatot. Második nagyon fontos proteáz a *tripszin*. Működése szintén a változatlan proteineket hidrolizálja, de a pepszinnel szemben a proteintól könnyen aminosavakat tesz szabaddá, tehát a peptidkapcsolatokat is megtámadja. E mellett bizonyít az is, hogy a mestésleges polypeptidek közül is számosat bont el a tripszin. Daczára azonban annak, hogy a hidrolízis legelső szakában szabad aminosavakat létesít, az egész proteinmolekulával nem bír megbirkózni, mert mindig maradnak vissza egymással összefüggő aminosavhalmazok, melyeknek hidrolízise még hosszú ideig tartó tripszinhatás után sem következik be. Ezeknek az aminosavhalmazoknak, valószínűleg polypeptidkeverékeknek (peptonoknak, albumózoknak) elbontására a *peptázok* és az *erepszin* vannak hivatva.

Külön kell megemlékezni az ú. n. *autolytos enzimekről* is. Ezek valószínűleg enzimkeverékek, melyekben tripszinek és peptázok egymásmellett működnek. Hatásaik azonban egymást elfedik, úgy hogy jelenleg még nem sikerült a folyamatokat elemeikre bontani.

Mielőtt a proteázokat részletesen ismertetném, szükséges a proteineket, valamint az enzim hidrolízisüknél jelentkező végső termékeket: az aminosavakat, továbbá az aminosavhalmazokat: peptonokat, albumózokat és polypeptideket tárgyalni és a felismerésükhöz — a hol lehet a meghatározásukhoz — vezető módszereket előadni.

A proteinek.

A proteinek, vagy fehérjeféle anyagok természetes előfordulásuk és jellemző tulajdonságaik alapján számos tagból álló önálló csoportot alkotnak. Felépítésükben a szén, a hidrogén, az oxigén, a nitrogén és a kén vesz részt. Bennük aminosavak vannak egymáshoz kapcsolva s még a kapcsolat leggyakoribb módja — a peptidkötés — is ismeretes Fischer Emil vizsgálatainak alapján. E tekintetben tehát a proteinek szerkezetét jobban ismerjük mint a polysaccharidokét, mert utóbbiaknál a monosaccharidmaradékoknak egymáshoz kapcsolódásáról semmi bizonyosat sem tudunk. A szerkezeti proteinek¹ részleges hidrolízisének nagyobb aminosavhalmazok: az albumózok, peptonok stb. keletkeznek, melyek a mesterségesen előállítható polypeptidekkel tartoznak közös csoportba. A teljes hidrolízis szabad aminosavakhoz juttat.

A proteinek jelenlétének kimutatására három reakciót használunk leggyakrabban. Ezek közül általános érvényű csak az ú. n. biuretreakció,

¹ Változatlan, szerkezeti vagy natív proteineknek azokat nevezzük, a melyek még éppen oly állapotban vannak, mint a hogy őket természetes előfordulásuknál találjuk, e szerint nincsenek még részlegesen hidrolizálva, vagy pedig oxidálva.

mert ez mutatja valóban a protein jelenlétét, míg a másik kettő csak a proteinekben nagyon gyakran jelenlévő egyes aminosavak kimutatására szolgál.

A *biuretreakció*t úgy végezzük, hogy a vizsgálandó anyagot erős nátron- vagy káliklúgban hidegen oldjuk, a cseppenként erősen hígított rézszulfátoldatot elegyítünk hozzá. A szerkezeti proteinek ilyenkor kékes ibolyától vöröses ibolyáig terjedő színárnyalatot öltenek fel, míg a részlegesen hidrolizált termékeknél az albumózok és peptonoknál, továbbá a hisztionoknál vörös színeződés mutatkozik. Az alkalmazott rézszulfát-oldat annyira híg legyen, kb. 2%-os, hogy a reakcióelegybe csepegtetésekor az oldatnak a rézszulfáttól eredő kék színét ne lássuk. Nem minden pepton létesít biuretreakció, a mesterséges polypeptidek közül pedig a magasabbrangú tagoknál sok esetben beáll a színeződés.

A *xanthoproteinreakció* a tryptophanban jelenlévő indolcsoportnak, továbbá az aromás maradékok jelenlétének köszönhető. Abban nyilvánul, hogy az ilyen csoportokat tartalmazó proteinoldatok erős salétromsav hatására nitroszarmazékok keletkezése következtében sokszor már hidegen, máskor melegítve erős sötétsárga színeződést, illetve csapadékot létesítenek. Nátronlúg fölöslegétől a csapadék vörösbarna, ammonia hatására pedig narancsszínűvé lesz.

A *Millon-féle reakció* a tyrosin vagy egyéb aromás szarmazék jelenlétét bizonyítja. Minthogy azonban a proteinekben a tyrozin nagyon gyakori épületkő, a biuretreakcióval együtt a Millon-reakció is a protein jelenlétét bizonyítja. A kémszer mercurinitrátoldat, mely csekély mennyiségű salétromsavat is tartalmaz. Úgy készül, hogy 1 s. r. higanyt 2 s. r. 1·42 fajsúlyú salétromossavban előbb hidegen végbemenő hatással, majd melegítéssel feloldunk. Kihülés után 2 térfogat vízzel hígítjuk az oldatot és ha üledéke van, ettől szűrőssel megtisztítjuk. Tyrosintartalmú proteinekkel érintkezésbe jutva, enyhe melegítéskor rózsas-, vagy téglavöröstől egész a sötét feketevörösig terjedő színeződés mutatkozik. Konyhasó nagyobb mennyisége a reakció létrejöttét megakadályozza.

Ezenkívül fontosak a proteinek kicsapódási reakciói. A proteinek rendesen csakis vízben oldódnak, minek következtében más folyadékokkal könnyen kicsapódnak. Abszolút alkoholban valamennyi protein oldhatatlan, míg hígított alkohollal szemben a fehérjék nagyon eltérően és jellegzetesen viselkednek. A proteinek chloridjai és nátriumsói alkoholban könnyebben oldódnak, mint a proteinek maguk. Albumózok és peptonok nehezebben csapódnak ki, mint a változatlan proteinek.

A nehéz fém sók közül nagyon sok kicsapja a proteineket. Ezek közül leghasználatosabbak a ferrichlorid, ferriacetát, cupriszulfát, mercurichlorid, ólomacetát, zinkacetát és uranylacetát.

A proteinek komplex savaknak egész sorával, melyeket alkaloid-

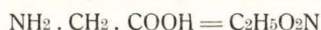
kémszereknek nevezünk, a kémszer feleslegének jelenlétében kiválnak. A csapadékok lúgos oldatban újra feloldódnak, csak néhány nagyon bázisos jellemű protein, mint a hisztonok, (ill. a részleges hydrolízis termékeik a hisztipeptonok) és a protaminok csapódnak ki gyengén lúgos vagy közömbös oldatból. A proteinek közül egynehánynál, még inkább a peptonoknál és az albumózoknál az alkaloid-kémszerrel létesített csapadék a kémszer fölöslegében feloldódik. Fontos alkaloid-kémszerek a *phosphorwolfrámsav*, *phosphormolybdénsav*, melyek nemcsak a változatlan proteineket, hanem hidrolizistermékeik egy részét is kicsapják. Elterjedten alkalmazzák továbbá a *ferrocyanhydrogénsavat*. A kémzés céljából a proteintartalmú folyadékot sósavval vagy eczetsavval erősen megsavanyítjuk és cseppenként elegyítünk hozzá ferrocyankalium-oldatot. A kémszert azért kell óvatosan hozzáelegyíteni, mert némely protein ferrocyanhydrogénvegyülete a kémszer fölöslegében feloldódik. A csapadékkal a proteinekre jellemző színreakciók még sikerülnek. A *csersavat* legcélszerűbben az ú. n. Almen-féle oldat alakjában használjuk, mely 4 g. csersav, 8 cm³ 25%-os eczetsav és 190 cm³ 40—50%-os alkohol elegye. Változatlan proteinekre nézve a kémszer nagyon érzékeny. Széltében alkalmazzák a *káliumjodomercurátot* és sósavat, továbbá egyéb jódtartalmú komplexvegyületet. Ezek közül különösen peptonok kicsapására a Brücke-féle kémszer leghasználatosabb. A folyadék úgy készül, hogy 50 g. nátriumjodidot és 100 g. bizmuthtrijodidot 100 cm³ 1/2%-os hidrogénjodid vizes oldatában oldunk. Ha az oldat sok közömbös só-t tartalmaz feloldva, a csapadékok leválása könnyebb. Némelykor a *platina-chloridot* is használják. Savanyú oldatokban nagyon érzékeny, csapadékot előidéző kémszerek a savanyú anilinfestékek, pl. violafekete, ponceau, palatinvörös stb. A legtöbb protein oldata salétromsavval megsavanyításakor leválik. Az albumózokkal keletkező csapadék a folyadék melegítésekor feloldódik, kihűléskor újra leválik. Melegítésre sokszor a xantho-proteinreakció is végbemegy.

Ha a proteineket teljesen hidrolizáljuk, savakkal, lúgokkal vagy enzimekkel, végső eredményben megkapjuk ammonia mellett a protein alapjául szolgáló részleteket: az aminosavakat. Az enzimés hidrolízis alkalmával természetesen egymásután kell hatni a proteinre előbb a pepszinnek, azután a tripszinnek; végül pedig az erepszinnek, hogy teljes hidrolízist érthessünk el. Az aminosavak ismerete a proteinekre, ennél fogva a proteázokra nézve is nagyon fontos, miért ezekkel is röviden foglalkoznunk kell.

A proteinek bomlástermékeiképpen rendszerint szereplő aminosavak a következők: glükocholl, d-alanin, d-valin, l-leucin, d-isoleucin, l-serin, l-asparaginsav, d-glutaminsav, d-lysin, d-arginin, d-ornithin, l-cystin, l-phenylalanin, l-tyrosin, l-prolin, l-oxyprolin, l-tryptophan, l-histidin.

A) A zsírsavcsoportozáshoz tartozó aminosavak:

I. Monoamino-monocarbonsavak.

Glükocholl (Glücin; Aminoecetsav)

Molekulasúly: 75·05. Összetétele: 31·98% C, 6·71% H, 18·67% N.

Braconnot (1830) már ismerte.

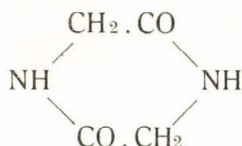
Szabad állapotban a Pecten irradians izmában s talán rendszeren az emberi vizeletben is előfordul. Az epében cholsavhoz kötve mint glükocholsav, a növényevők vizeletében benzoésavhoz kötve mint hyppursav jelenik meg. Szintézis: monochloreccetsavból ammonia hatására keletkezik.

Fizikai és kémiai sajátosságai: Monoklin kristályokban válik ki, melyek 4 s. r. hideg vízben oldódnak; meleg vízben sokkal jobban oldódnak. Alkoholban, éterben stb. oldhatatlan. Olvadáspontja bomlás közben 240° körül van. Íze édes. 10%-os oldata 50%-os phosphorwolframsavval kicsapódik.

Legjellemzőbb származékai:

Glükochollaethyléterchlorhydrat. $\text{HCl} \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOC}_2\text{H}_5$. Keletkezik, ha glükochollt alkoholban szétosztatunk s lehűtés nélkül száraz sósavgázt hajtunk a keverékbe, miközben a glükocholl feloldódik és a folyadék felmelegszik. Lehűléskor a vegyület színtelen tűkben válik ki. Olvadáspontja 144°.

Glükochollpikrát. $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_3\text{O}_7\text{N}_3$. 1 súlyrész forró vízben oldott glükochollt 4 s. r. alkoholban oldott pikrinsavval elegyítünk. Kihűléskor halványsárga lemezek válnak ki. Alkoholból átkristályosítva, olvadáspontja 190°. A vegyület alkalmas a glükocholl és alanin keverékek elválasztására, a mennyiben a glükochollpikrát nehezebben oldható.

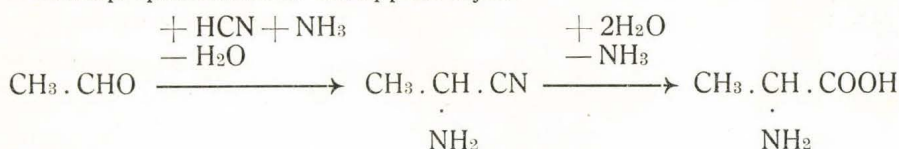
Glücinanhydrid.

A szabad glükochollaethyléter vizes oldatából hosszabb állás után ki-kristályosodik. Olvadáspontja 305°, alkálifémhydroxiddal elbontva a glycyglycin dipeptidet, $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$ létesíti.

d-Alanin (d-α-Aminopropionsav)

Molekulasúly: 89·07. Összetétele: 40·42% C, 7·93% H, 15·73% N.

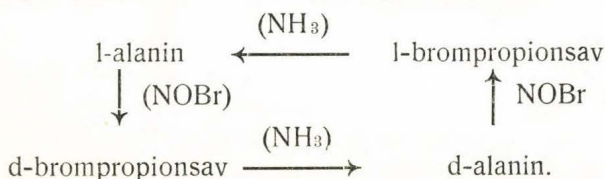
A proteinek hidrolizistermékei között Schützenberger és Weyl észlelték először. Szintézise a dl-alanin benzoylszármazékának brucinsója segítségével sikerült. A brucinsó szakgatott kristályosítással ugyanis az optikailag hatásos sókra bontható. A dl-alanin maga aldehyd-ammoniából a cyanhydrinreakció útján állítható elő, ha a keletkezett α -aminopropionsavnitrilt elszappanosítjuk:



acetaldehyd

α -aminopropionsavnitril

A d-alaninhoz más úton is eljuthatunk. A dl-alanint ugyanis cukor jelenlétében élesztővel erjesztjük, miközben az élesztő nitrogén-szükségletének fedezésére csak a természetben előforduló d-alanint használja fel, míg az l-alanint úgyszólván teljesen megkaphatjuk.¹ Az l-alanin nitrosylbromid hatására d-brompropionsavat létesít, mert a folyamat ú. n. Walden-féle átalakulással jár, miközben a vegyület térbeli elhelyeződése megváltozik. Ammonia hatására a d-brompropionsav a d-alanint létesíti. Viszont a d-alanin nitrosylbromiddal ismét l-brompropionsavvá alakul. Az átmeneteket a következő minta mutatja:



A d-alanin az l-szerinből is előállítható hydrogenjodiddal redukálás útján; miből az is következik, hogy a két aminosav térbeli elhelyeződése ugyanaz.

Fizikai és kémiai sajátosságai. Vizes oldatból lassú kikristályosítás-kor rhombos oszlopokban válik ki; vizes oldatából alkohollal kicsapva, szintelen tűkben kristályosodik. Közöséges hőmérsékleten 4–5 s. r. vízben oldódik; oldata édes ízű. Hígított alkoholban kissé, víztől mentes alkoholban csaknem oldhatatlan. Gyors hevítéskor 297° körül elbomlik. Sósavas sójának vizes oldata $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +10.3^\circ$ forgat, míg az alanin maga nagyon keveset forgat: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +2.7^\circ$.

Legjellemzőbb származékai:

β -Naphthalinsulfo-d-alanin²

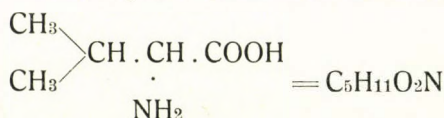


¹ F. Ehrlich, Biochem. Zeitschr. 1, 8–31 (1906).

² E. Fischer és J. Bergell, Berichte 35, 3779 (1902).

Molekulasúlya 279·18. Keletkezik, ha d-alanint lúgos oldatban fölös mennyiségű β -naphtalinsulfochlorid éteres oldatával rázunk szobahőmérsékleten. A szüredék megsavanyítása után kiváló olaj 0°-on állva, kristályosan megmerevedik. A termelés a számított értéknek 90%-a. Forró vízből rendkívül finom tűcsoportokban válik ki; kristályvize nincs. A száraz anyag 117°-on összeomlik és 122—123°-nál megolvad. Számított mennyiségű kálilúg jelenlétében 2·5 koncentráció mellett $[\alpha]_D^{20} = -57\cdot7^0$. Jellemző nehezen oldható báryumsója, mely akkor válik ki, ha a naphtalinsulfo-d-alanin ammoniumsóját báryumchloriddal elegyítjük.

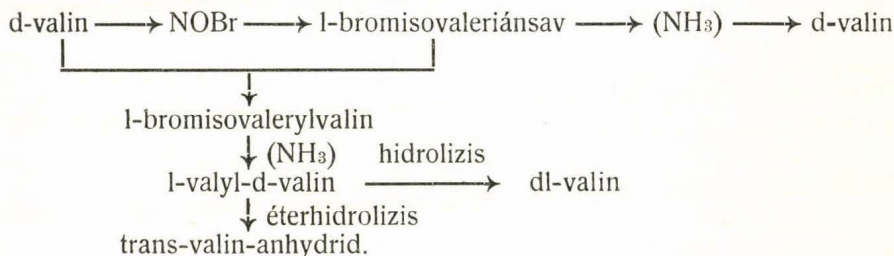
d-Valin; d- α -Aminoisovaleriánsav



Molekulasúlya: 117·10. Összetétele: 51·24% C, 9·47% H, 11·96% N.

A valint Gorup-Besanez fedezte fel a hasnyálmirigyben. A legtöbb protein hidrolizisénél jelentkezik. Szintézise a dl-valin közvetítésével sikerült. A dl-valin ugyanúgy állítható elő, mint a dl-alanin, de akkor is keletkezik, ha α -bromisovaleriánsavra ammonia hat. Formylszármazéka, mely dl-valinnak víztől mentes hangyasavval való főzésekor áll elő, a brucinsó segítségével könnyen az optikailag hatásos alkotórészeire bontható.

Fizikai és kémiai tulajdonságai. Színtelen, fényes a leucinkristályokhoz hasonló lemezekék; zárt hajszálcsőben 306°-on (javítva 315°) olvad. Nyitott csőben erősen szublimál s részben anhydridkeletkezés közben elbomlik. 1 s. r. d-valin 16·5°-on 11 s. r. vízben oldható. Íze gyengén édes, de egyszersmind keserű is. $[\alpha]_D^{20}$ 20%-os sósavban = +28·8°, vízben pedig: +6·42°. Nitrosylbromid hatására l- α -bromisovaleriánsavat eredményez, mely ammoniával újra d-valinná alakul. Az l-bromisovaleriánsavnak d-valinnal való vegyülete ammonia hatására l-valyl-d-valint eredményez, melynek hidrolizise a dl-valinhoz vezet, az éter hidrolizise pedig trans-valinanhydridot keletkeztet.

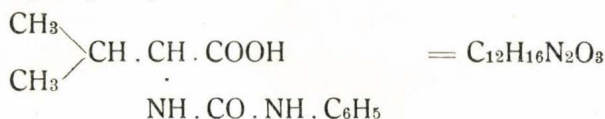


Jellemző vegyületei:

d-valinrézsó. $C_{10}H_{20}N_2O_4Cu$. Molekulasúlya: 295·75.

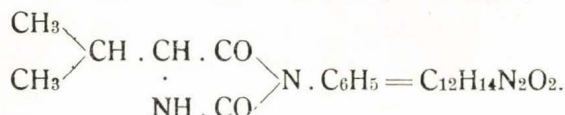
Kék lemezek. Vízben nem könnyen oldható 18-on 52 súlyrész methyl-alkoholban feloldódik.

d-valinphenylisocyanat.



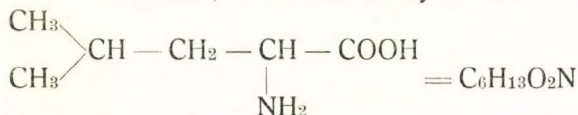
Molekulasúlya 236·15. 2 g. valinból, 17 cm³ normális nátronlúgból és 80 cm³ vízből készült, 0°-ra lehűtött oldatához rázás közben apró részletekben 2·3 g. phenylisocyanatot öntünk. A lúgos szüredék meg-savanyításakor részben kristályos csapadék válik ki, mely üvegbottal dörzsölve, teljesen megmerevedik. A termelés a számított értékek 90%-a. Tisztítás céljából kb. 130 s. r. forró vízből kristályosítjuk át. Mikroszkópos prizmák. Olvadáspontjuk 154°.

d-valinphenylisocyanatanhydrid (d-phenylisopropylhydantoin).



Molekulasúlya 218·13. A d-valinphenylisocyanatból erős sósav hatására keletkezik. E célból a phenylisocyanatot 20%-os sósavban rövid forralás közben feloldjuk, a folyadékot vízzel hígítjuk és állni hagyjuk, miközben az anhydrid kikristályosodik. Tisztítás céljából a kristályokat éterben oldjuk és petroléterrel újra leválasztjuk. Színtelen, keskeny prizmák. Olvadáspont 131—133° (korr.) Forró vízben is nehezen oldható. $[\alpha]_D^{20} = -97\cdot5^0 (\pm 0\cdot4^0)$ (0·420 g. absz. alkoholban, az oldat összes súlya 7·315 g.).

l-Leucin; l-α-aminoisobutyleczetsav.



Molekulasúlya 131·11. Összetétele: 54·97% C, 9·99% H, 10·69% N.

Proust-nak (1818) és Braconnot-nak köszönjük felfedezését. Szerkezetét végérvényesen Schulze és Likiernik derítették ki. Szintézisének legczélszerűbb útja a dl-leucin formylszármazékának szétbontása a brucinsó segítségével. A dl-leucin maga legkönnyebben az isoamylalkoholból, illetőleg annak oxidációja útján keletkező isovaleral-

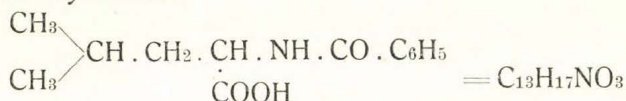
dehydből állítható elő, ha a cyanhydrogen és ammonia hatására létrejött isovaleroamidonitrilt elszappanosítjuk. (Lásd alaninál.) l-leucint d-leucinból is lehet előállítani, ha a nitrosylbromid segítségével létesített bromisocaprónsavat ammonia hatásának vetjük alá.

Fizikai és kémiai sajátosságai. Színtelen, igen könnyű, zsíros tapintatú és nehezen nedvesedő selyemfényű lemezkék. Olvadáspontja $293-295^{\circ}$. Szobahőmérsékleten kb. $40-45$ s. r. víz szükséges feloldásához. Oldódik 1385 s. r. hideg és 826 s. r. forró alkoholban. Íze kissé kesernyés. $[\alpha]_D^{20}$ 20% -os sósavban $= +15.9^{\circ}$, vizes oldatban $= -10.34^{\circ}$.

Legjellemzőbb vegyületei:

l-Leucinrézsó. $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$. Molekulasúlya $= 323.78$. Tartalmaz 19.6% rézet. Keletkezik, ha l-leucin vizes oldatát frissen kicsapott réz-oxidral forraljuk. Világoskék kristálypikkelyek; mikroszkópos rhombos lemezek. Oldódik 3045 s. r. hideg és 1460 s. r. forró vízben. Alkoholban oldhatatlan.

l-Benzoyl-leucin.



Molekulasúlya 235.15 . Legczélszerűbben úgy állítjuk elő, ha l-leucint (10 g.) normál nátronlúgban (153 cm³) oldunk és nátriumhydrocarbonát (76 g.) jelenlétében vizes oldatban benzoylchloriddal (64 g.) rázunk. A szüredék megsavanyítása után kiválik a benzoyl-l-leucin, benzoëssavval keverve. A megszáritott tömeget a benzoëssav eltávolítása végett forró ligroinnal oldjuk ki, a maradékot pedig éterben oldjuk és meleg petrolétert addig keverünk hozzá, a míg zavarodás nem mutatkozik. A kivált kristályok $\frac{1}{2}$ molekula kristályéért tartalmaznak, melyet vákuumban 50° -on elveszítenek.

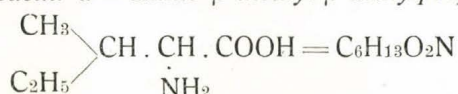
Az étertartalmú anyag 60° -on, az étermentes $105-107^{\circ}$ (korr.)-nál olvad. $[\alpha]_D^{20} = +6.59^{\circ}$ (1.0463 g. 6 cm³ normálkálilúgban oldva).

Benzolsulfo-l-leucin. $C_6H_5 \cdot SO_2 \cdot NH \cdot C_5H_{10} \cdot COOH = C_{12}H_{17}NO_4S$. Molekulasúlya 271.22 . l-leucint nátronlúgban oldunk és felváltva kis adagokban rázás közben benzolsulfochloridot és nátronlúgot öntünk hozzá. A szüredék megsavanyításakor kiváló kristályos tömeget forró benzolból kristályosítjuk át. Lapos, tompított prizmák. Olvadáspontja $119-120$ (korr). Vízben nehezen, alkoholban, éterben, jégeczetben és chloroformban könnyen oldódik. $[\alpha]_D^{20} = -39.0^{\circ}$ (1.085 g. 4 cm³ normálkálilúgban oldva).

β -Naphtalinsulfo-l-leucin. $C_{10}H_7 \cdot SO_2 \cdot NH \cdot CH(C_4H_9) \cdot COOH = C_{16}H_{19}O_4NS$. Molekulasúlya 321.23 . Keletkezik, ha l-leucin normál alkálifémhydroxid jelenlétében 2 mol. β -naphtalinsulfochlorid éteres

oldatával rázzuk. A szüredék megsavanyításakor színtelen olaj válik le, mely két napi állás után kristályosan megmerevedik. A tömeget 120 s. r. 20⁰/o-os alkoholból kristályosítjuk át. A termelés a számított értéknek 74⁰/o-a. A hosszú, keskeny, nyársalakú prizmák egy molekula kristályvízzel válnak ki. A kristályvíz 85⁰-on elszáll. Hajszálcsőben melegítve 60⁰-on összeomlik, és 67⁰ (korr. 68⁰)-nál színtelen olajjá olvad. Alkoholban és éterben könnyen, vízben nagyon nehezen oldódik. Forró vízből feloldásához kb. 400 s. r. szükséges.

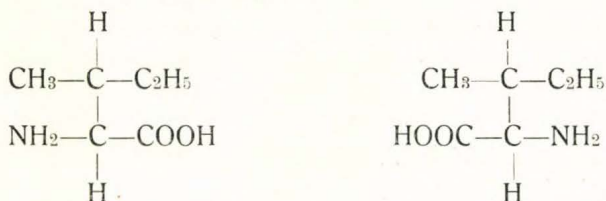
d-Isoleucin. d-α-amino-β-methyl-β-aethylpropionsav.



Molekulasúlya 131·11. Összetétele 54·97⁰/o C, 9·99⁰/o H, 10·69⁰/o N.

Fölfedezését és szerkezetének kiderítését F. Ehrlich-nek¹ köszönhetjük. A proteineknél majdnem mindig kísérője a leucinnak. Szintézise olyan eljárás szerint sikerült, mint az l-leuciné. Kiindulási anyaga a d-amylalkohol.

Fizikai és kémiai sajátosságai: Fénylő lemezekben kristályosodik, melyek külsőleg teljesen megegyeznek a leucinkristályokkal. Ha oldatából lassan kristályosodik ki, centiméterhosszú vékony rudakat, vagy rhombos lemezeket alkot. Zárt csőben 280⁰-on olvad, nyitott csőben 230⁰-on kezd szublimálni. Az l-leucinnál könnyebben oldható: 15·5⁰-on 26 s. r. vízben oldódik. Íze kissé kesernyés és összehúzó. Hideg alkohol és methylalkohol nem oldja; a forró oldatokban, különösen methylalkoholban észrevehetően oldódik. $[\alpha]_D^{20}$ 20⁰/o-os sósavban = +36·80⁰, n. nátrium-hydroxidoldatban: = +11·09⁰, vízben: +9·58⁰. Vizes oldatát báriumhydroxiddal autoklávban 180⁰-ra hevítve, forgatótehetsége gyengén balra tér át, azután már nem növekszik, bármilyen hosszú ideig tartson, is a hevítés. Ilyenkor d'-alloisoleucin keletkezik. Ez abban különbözik a d-isoleucintól, hogy benne az egyik aszimmetriás szénatómhoz fűzött atómcsoportok helyzetüket kicserélték. A két vegyület térbeli elrendeződését a következő két képlet fejezi ki:



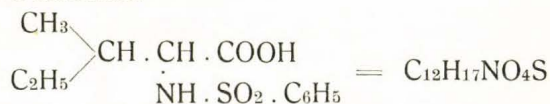
¹ F. Ehrlich. Zeitschrift des Vereines der deutschen Rübenzuckerindustrie 54, 975 (1904); 55, 892 (1905); Berichte der deutschen Chemischen Gesellschaft 37, 1809 (1904); 41, 1453 (1908).

A *d-isoleucin* legjellemzőbb származékai:

d-isoleucinrézsó. $C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$. Molekulasúlya 323·73, réztartalma: 19·64 %. A *d-isoleucin* vizes oldatát frissen lecsapott rézoxiddal fél óráig főzzük, a szüredéket bepárolgatjuk és a maradékot vízből vagy 90%-os alkoholból átkristályosítjuk. Keskeny, hosszú rudacsókákban válik ki, melyek csillagszerűen vannak elhelyezve. A só 17°-on 55 s. r. methylalkoholban, 18°-on 476 s. r. aethylalkoholban, továbbá 278 s. r. vízben oldódik. Forró amylalkoholban még észrevehetően oldódik. Benzylalkohol sötétkék színnel olyan könnyen oldja, mint a methylalkohol. Az oldatból éterrel világoskék por alakjában csapódik ki. Eczetéterben és acetonban teljesen oldhatatlan.

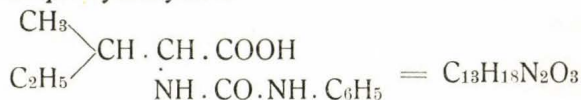
Benzoyl-d-isoleucin. $C_{13}H_{17}N_3$. Molekulasúlya 235·15. 3 g. *d-isoleucin* 23 cm³ normális nátriumhydroxidban és 60 cm³ vízben oldunk, s az oldatba rázás közben 11·5 g. nátriumhydrocarbonátot és 9·6 g. benzoylchloridot adagolunk. A szüredék megsavanyításakor kiváló benzoyl-*d-isoleucin* és benzoësav keveréket megszáritjuk, s a benzoësav eltávolítása céljából benzollal rázzuk. Az oldatlan maradékot vízből átkristályosítjuk. Termelés 3 g. Színtelen, hosszú, fénylő tűkben kristályosodik. 114°-on összeomlik és 116—117°-nál megolvad. Nehezen oldható hideg vízben, sokkal könnyebben melegben. Ligroinban és széndisulfidban nehezen, de észrevehetően oldódik. Alkoholban, éterben, eczetéterben, acetonban, meleg benzolban és toluolban könnyen oldható. $[\alpha]_D^{20} = +26·36^0$ (1·4612 g. 9 cm³ normál nátriumhydroxidban oldva, az oldat összes súlya 19·6544 g.).

Benzolsulfo-d-isoleucin.



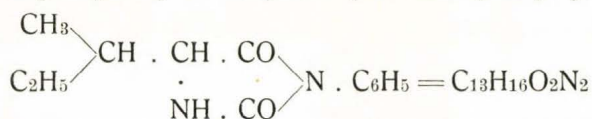
Molekulasúlya 271·22. 2·5 g. *d-isoleucin*t 20 m³ normál nátriumhydroxidban oldunk és kis adagokban 7·5 g. benzolsulfochloriddal és 30 cm³ 22%-os káliumhydroxiddal rázzuk. A szüredék megsavanyításakor kiváló olaj, üvegbottal dörzsölve, kristályosan megmered. Forró benzolból átkristályosítva a termelés 3 g. Színtelen lándzsaalakú kristályok válnak ki. Olvadáspontja 149—150°. Nagyon könnyen oldódik hideg alkoholban, éterben, acetonban, eczetéterben, könnyen oldódik forró vízben, benzolban toluolban és chloroformban, csaknem oldhatatlan ligroinban és széndisulfidban. $[\alpha]_D^{20} = -12·04^0$, (1·501 g. 6 cm³ normálnátriumhydroxidban, az oldat összes súlya 19·7118 g.).

d-isoleucinphenylisocyanát.



Molekulasúlya 250·16. 2 g. d-isoleucint 1·6 cm³ normálnátriumhidroxidban oldunk és erős hűtés és rázás közben kis részletekben 2 g. phenylisocyanáttal elegyítjük. A szüredék megsavanyításakor kiváló csapadékot kevés hideg alkoholban oldjuk és addig keverünk hozzá hideg vizet, a míg zavarodás nem mutatkozik. Nemsokára szintelen fénylő lemezek válnak ki. Olvadáspontja gázfejlődés közben 119—120°. Hideg vízben oldhatatlan, könnyen oldódik forró vízben és chloroformban, nagyon könnyen hideg alkoholban, éterben, acetonban, eczetéterben, nehezen benzolban, még nehezebben ligroinban és alig széndiszulfidban. $[\alpha]_D^{20} = +14·92^\circ$ lúgos oldatban (0·8124 g., az oldat súlya 15·4248 g.).

d-isoleucinphenylisocyanatanhydrid. (*d*-isoleucinphenylhydantoin).

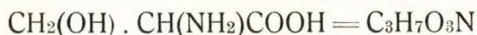


Molekulasúlya 232·15. 1 g. d-isoleucinphenylisocyanátot 100 cm³ 1·124 fajsúlyú sósavban oldjuk és szabad lángon 25 cm³-nyire párologtatjuk be. Kihüléskor 0·7 g. nyertermék válik ki, melyet ligroinból átkristályosítunk. Cszentiméterhosszú, selyemfényű tűkben válik ki. Olvadáspontja 78—79°. Nehezen oldható hideg vízben és ligroinban, könnyebben a forró oldószerekben. A többi közönségesen használt oldószer rendkívül könnyen oldja; amylalkohol, pyridin, nitrobenzol és anilin szintén. Alkoholos oldata erősen balra forgat.

d'Alloisoleucin. Külsőleg teljesen megegyezik a *d*-isoleucinnal. Fénylő, szintelen vékony lemezekben kristályosodik. Olvadáspontja habzás közben 280—281°, 90°-on 34 s. r. vízben oldható. A többi oldószerral szemben úgy viselkedik, mint a *d*-isoleucin. Íze édes $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -12.87^\circ$, 3.61%-os vizes oldatban, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14.44^\circ$, 2.39%-os vizes oldatban, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -34.38^\circ$, 4.71%-os, 20%-os sósavas oldatban. Rézsőjának tulajdonságai megegyeznek a *d*-isoleucin rézsőjájával.

II. Monoamino-oxy-monocarbonsavak.

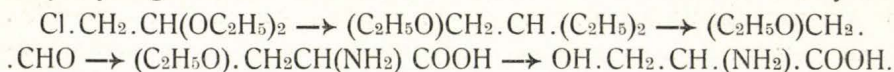
l-Serin *l*- α -amino- β -oxypropionsav.



Molekulasúlya = 105.07; összetétele 34.26% C, 6.72% H, 13.34% N.

A serint Cramer (1865) fedezte fel a selyem enyvének kénsavas hidrolizise alkalmával. Későbbben a legtöbb protein hidrolizistermékei között megtalálták, és l-serinnek ismerték fel. A racém alak szintézise először a glükolaldehidből cyanhydrogén hatására sikerült. Előállítására

czélszerűbb azonban a másik út, mely a chloracetaltól indul ki. Nátriumaethylát hatására ez aethoxylacetallá alakul, mely híg kénsavval aethoxyaldehydet ad. Az utóbbi termék, ammonia hydrogécyanid és sósav közvetítésével a cyanhydrinreakció szerint β -aethoxyalanint létesít, mely hydrogénbromid okozta hidrolízis után a dl-serint eredményezi:

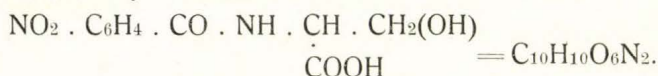


A dl-serin p-nitrobenzoylszármazéka a brucinsójának segítségével az optikailag hatásos serinekké bontható.

Fizikai és kémiai sajátosságai. Kevés vízből 0°-on lassan elég nagy prizmákban, vagy hatszögletű lemezekben válik ki. Hajszálcsőben gyors hevítéskor 207°-on (korr. 211°-on) barnul és 223° (korr. 228°) körül gázfejlődés közben elbomlik. 3—4 s. r. vízben oldódik. Nagyon gyengén édeskés, egyúttal kesernyős ízű is. $[\alpha]_D^{20}$ vizes oldatban = -6.83° , sósavas oldatban = $+14.45^\circ$ (0.5022 g., 5.05 cm. normálsósavban oldva; az oldat összes súlya 5.6241 g.). Hydrogénjodiddal redukálva d-alaninná alakul át.

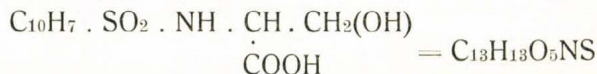
Jellemző származékai:

p-Nitrobenzoyl-l-serin.



Molekulasúlya 254.10. Nátriumhydroxid jelenlétében p-nitrobenzoyl-chloriddal rázva keletkezik. A szüredék megsavanyításakor kiváló terméket forró vízből kristályosítjuk. Fénylő halványsárga prizmákban válik ki oldatából. Hajszálcsőben hevítve 171°-on összeomlik és 189.5°-on bomlás közben olvad. $[\alpha]_D^{20} = +43.56^\circ$, lúgos oldatban. (1.5011 g. 6.25 cm³ normális nátriumhydroxidoldatban és körülbelül 8 cm³ vízben oldva; az oldat összes súlya 15.0116 g.).

β -Naphtalosulfo-l-serin.



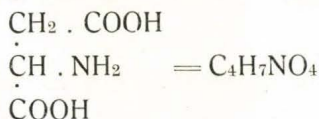
Molekulasúlya 295.18. Olyan körülmények között keletkezik, mint a d-alanin származéka (lásd ott). Kristályvízzel és kristályvítztl mentesen is kristályosodik. A kristályvíz 80°-on száll el. Víztl mentesen forró alkoholból apró tűkben válik ki. Olvadáspontja 220°. Vízben elég nehezen, éterben nehezen, alkoholban könnyebben oldódik.

l-Serinanhydrid. $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4\text{N}_2$. Az l-serinmethyleterchlorhydráttól nátriummethylláttal könnyen keletkezik a szabad methyleter. Az erősen lúgos hatású szirupból 25°-on 12—15 órai állás után az anhydrid

apró tüi válnak ki. Olvadáspontja bomlás közben 247° körül van. $[\alpha]_D^{20} = -67.46^{\circ}$ vizes oldatban.

III. Monoamino-dicarbonsavak.

l-Asparaginsav (l- α -aminoborostyánkősav).



Molekulasúlya 133.07. Összetétele 36.08% C, 5.31% H, 10.53% N, 48.11% O.

A savat Plisson (1827) észlelte először. Szabad állapotban a Tritonium nodosum mirigyváladékában fordul elő. A dl-asparaginsav szintézise fumársavból alkoholos ammoniával való hevítés útján sikerült. A dl-asparaginsav benzoylszármazéka a brucinsó segítségével az optikailag hatásos aminosavakra bontható.

Fizikai és kémiai tulajdonságai. Rhombos lemezekben vagy priz-mábkban kristályosodik. Vízben elég nehezen oldható és savanyú kém-hatású és ízű. Zárt csőben hevítve $270-271^{\circ}$ körül elbomlik. $[\alpha]_D^{20} = -2.37$ lúgos oldatban, 3 molekula nátriumhydroxid jelenlétében. A lúg mennyiségének emelkedésével csökken a forgatótehetség. $[\alpha]_D^{20}$ savanyú oldatban, 3 molekula sósav jelenlétében $= +26.47^{\circ}$.

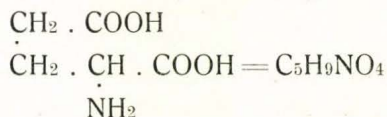
Jellemző származékai:

Benzoyl-l-asparaginsav. $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_5\text{N}$. Úgy készül, mint az előbb leírt aminosavak benzoylszármazéka. Meleg vízből tűkben, vagy keskeny lemezekben kristályosodik. 3—4 s. r. forró vízben és 261 s. r. 20%-os vízben oldódik. Olvad $184-185^{\circ}$ -on bomlás nélkül. $[\alpha]_D^{20}$, 2 molekula káliumhydroxid jelenlétében $= +37.4^{\circ}$.

α -Naphtylisocyanat-l-asparaginsav. $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{N}_2$. 1.33 g. l-asparagin-savból, 20 cm³ normális nátriumhydroxidben oldva és 2 g. naphtyl-isocyanatból 60 cm³ víz jelenlétében áll elő nátriumsója.

A szüredék megsavanyításakor kocsonya válik ki, mely hígított alkoholból rosszul kifejlődött apró tűkben kristályosodik. A termelés majd-nem mennyiségileg pontos. 96° -on megpuhul, 115° -on gázfejlődés közben olvad.

d-Glutaminsav (d- α -aminoglutársav).



Ritthausen fedezte fel 1866-ban. Az izonitroglutársav redukálása útján szintétikusan előállították a dl-glutaminsavat, melynek benzoyl-származéka a strychninsó szakgatott kristályosítása útján a d-glutaminsavhoz vezet.

Fizikai és kémiai tulajdonságai. Rhombos-szfenoid-hemiédes kristályokban válik ki. 100 s. r. vízben oldódik s az oldat savanyú kémhatású és ízű, jellemző utóíze is van. $[\alpha]_D^{20}$ vizes oldatban $= +10.5^\circ$, sósavas oldatban pedig $= +30.45^\circ$.

Jellemző származékai:

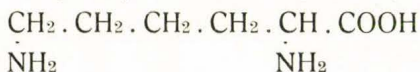
d-Glutaminsavchlorhydrát. $C_5H_9NO_4 \cdot HCl$. Forró tömény sósavból triklin-lemezekben kristályosodik. Hideg tömény sósavban nehezen oldódik, miért is a glutaminsav leválasztására alkalmas. 193° körül bomlás közben olvad.

Benzoyl-d-glutaminsav. $C_{12}H_{13}NO_5$. A glutaminsavból nátriumhydroxid jelenlétében benzoylchloriddal keletkezik. Vízből finom selyemfényű, legtöbbször csillagalakban elhelyezett tűkben kristályosodik. Olvadáspontja $130-132^\circ$. $[\alpha]_D^{20}$ vizes oldatban $= +13.81^\circ$, lúgos oldatban, két molekula káliumhydroxid jelenlétében $= +18.7^\circ$.

α -Naphtylisocyanat-d-glutaminsav. $C_{11}H_{16}N_2O_5$. 90%-os alkoholból hosszú tűkben kristályosodik. Olvadáspontja $236-237^\circ$.

IV. Diamino-monocarbonsavak.

d-Lysin (α - ϵ -Diaminocaprónsav).



Molekulasúlya: 146.13. Összetétele 49.27% C, 9.66% H, 21.90% N. A kazein bomlási termékei között Drechsel találta meg. Szerkezetét Ellinger derítette fel azzal az észleléssel, hogy a lysinből rothadás-kor széndioxid felszabadulása mellett pentamethylendiamin (cadaverin) keletkezik. A dl-lysin szintézisét E. Fischer és Weigert hajtották végre először. Kiindulási anyaguk a γ -cyanpropylmalonsavéter $NC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(COOC_2H_5)_2$ volt, mely salétromsav hatására α -oximido- δ -cyanvaleriansav aethylétert: $NC \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot C(:N \cdot OH) \cdot COOC_2H_5$ létesíti. Utóbbi vegyületből nátriummal és alkohollal végzett redukálásra a dl-lysin létesül. Azóta kényelmesebb utat talált a dl-lysin előállítására v. Braun. Ő a benzoylpiperidint phosphorpentachriddal főzve ϵ -chlorbenzoylamylaminná $C_6H_5 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot Cl$ alakítja át. A chlort közvetlenül nem lehet cyánnal helyettesíteni, miért előbb jódszármazékká kell átalakítani a terméket, mely káliumcyaniddal a nitrilt: $C_6H_5 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CN$ létesíti. Ez kálium-

hydroxiddal az ϵ -aminonormálcaprónsavvá változtatható, vörös phosphor jelenlétében minden nehézség nélkül brómozható, s a keletkező ϵ -benzoyl-amino- α -bromcaprónsav ammonia hatására az ϵ -benzoyl dl-lysint létesíti, melynek sósavval végzett hidrolizise a dl-lysint eredményezi. A természetben előforduló optikailag hatásos lysint még nem sikerült előállítani.

Fizikai és kémiai sajátosságai. Kristályos állapotban még nem ismeretes. Vizes oldata erősen lúgos kémhatású, a levegőből széndioxidot vesz fel, miért is kényelmetlen vele dolgozni. Jellemzésére, főleg pedig forgatótehetségének meghatározására a dichlorhydrat vegyületét szokták alkalmazni. Ez $\alpha_D^{20} = +16.36^\circ$ -ot mutat 11 $^\circ$ -os oldatban, és 10 $^\circ$ -os oldatban $+17.25^\circ$ -ot. A sósav mennyiségével a forgatótehetség mértéke is növekszik. A különböző készítmények forgatótehetsége meglehetősen eltér, talán mert a műveletek alkalmával a d-lysinegy része dl-lysinné alakul, vagy esetleg másféle még közelebből nem ismert szennyezések zavarnak. A lysinegy ezüstoxidot könnyen old fel.

Legjellemzőbb származékai:

d-Lysinmonochlorhydrat. $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot HCl$. Tömény vizes oldatból nagy átlátszó kristályokban válik ki. Vizes oldata lakmuszra közömbös kémhatású.

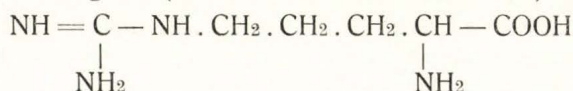
d-Lysindichlorhydrat. $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl$. Hosszú prizmákban kristályosodik. Vizes oldata savanyú kémhatású. Olvadáspontja 192—193 $^\circ$.

d-Lysinplatinasó. $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot H_2PtCl_6 + C_2H_5OH$. Keletkezik, ha a lysinchlorhydratokat alkoholos platinachloridoldattal elegyítjük. Szép sárgavörös prizmákban válik ki.

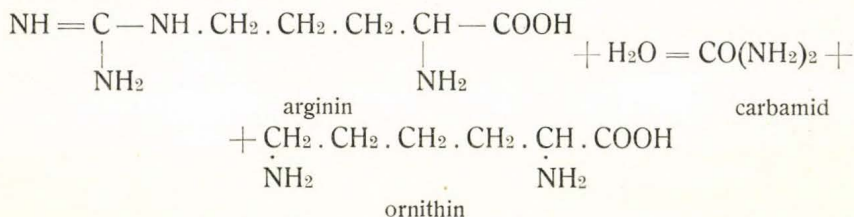
d-Lysinpikrat. $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_6H_2(NO_2)_3 \cdot OH$. Sárga csapadék alakjában akkor válik ki, ha a lysinegy tömény vizes oldatát tömény alkoholos pikrinsavoldattal elegyítjük. 21 $^\circ$ -nál 100 s. r. vízben 0.54 s. r. pikrat oldódik.

Lysursav: Dibenzoyle-d-lysine. $C_6H_{12}(CO \cdot C_6H_5)_2N_2O_2$. Akkor keletkezik, ha a lysinegy a többi aminosavnál leírt Schotten-Baumann-féle eljárás szerint benzoylszármazékká alakítjuk. Ennek savanyú báryumsója nagyon jellemző: $2(C_6H_{12}[CO \cdot C_6H_5]_2N_2O_2) + (C_6H_{11}[CO \cdot C_6H_5]_2N_2O_2)_2Ba + 2H_2O$. A só 15 $^\circ$ -on 5000 s. r. vízben tökéletlenül, forró alkoholban azonban jól oldódik. Ezüstoffényű tűkben válik ki, melyeknek olvadáspontja 144—145 $^\circ$. A normális báryumsó $(C_6H_{11}[CO \cdot C_6H_5]_2N_2O_2)_2Ba + 1\frac{1}{2}H_2O$ vízben könnyebben oldható (1:246). A normális ezüstsó $C_6H_{11}(CO \cdot C_6H_5)_2N_2O_2 Ag + \frac{1}{2}H_2O$ nehezen oldható lemezekben kristályosodik, s akkor válik le, ha a savanyú báryumsó alkoholos oldatához alkoholos ezüstnitrátoldatot öntünk.

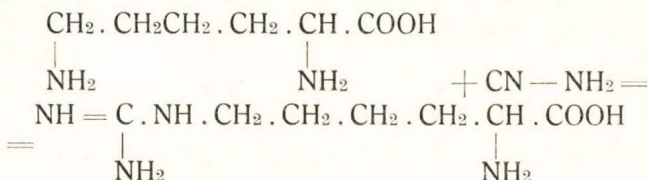
d-Lysinpikrolonát. $C_6H_{12}N_2O_2 \cdot C_{10}H_8N_4O_5$. Vízben könnyen, alkoholban nehezebben oldható. Bomláshőmérséklete 246—252 $^\circ$.

d-Arginin-(δ -Guanido- α -aminovaleriansav).

Fölfedezését E. Schulze és Steiger-nek, kémiai szerkezetének kiderítését Schulze és Winterstein-nek köszönhetjük. Utóbbi szerzők bebizonyították, hogy az arginin baryumhydroxiddal főzve ornithinra és carbamidra bomlik:



Az *dl.* ornithinnak több szintézise ismeretes és optikailag hatásos alakjaira is bontható benzoylszármazékának brucinsója segítségével. A szerkezet helyes voltát bizonyítja, hogy az arginin ornithin és cyanamidból létesíthető.



Fizikai és kémiai sajátosságai. Derékszögűen letompított, vagy kihagyezett táblák, illetőleg keskeny prizmák csoportjában kristályosodik. Hajszálcsőben hevítve 207° körül elbomlik. Könnyen oldható vízben s az oldat erősen lúgos kémhatású.

A d-Arginin legjellemzőbb vegyületei:

d-Argininnitrát. $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HNO}_3 + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$. Apró szintelen tűkben kristályosodik. Vízben könnyen, alkoholban nehezen, vizes alkoholban elég könnyen oldódik. Olvadáspontja 126° .

Savanyú-d-argininnitrát. $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 2\text{HNO}_3$. Hosszú szintelen tűk, vagy pikkelyszerű táblákból alkotott csoportokban válik ki. Olvadáspontja bomlásközben 150° .

d-Argininchlorhydrát. $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{HCl}$. Fénylő monoklin lemezekben válik ki. Hajszálcsőben hevítve 208° -on kezd összeomlani, 209° -on gázfejlődés mutatkozik, s néhány fokkal följebb teljesen elbomlik. Vízben könnyen oldható. $[\alpha]_D^{20} = +10.70^\circ$ kb. 10% -os vizes oldatban. Az oldat sósavtartalmának emelkedésével a forgatóképesség is növekszik. 7 molekula sósav jelenlétében $[\alpha]_D^{20} = +20.78^\circ$.

d-Argininphosphorwolframat. $(C_6H_{14}N_4O_2)_3 \cdot 2H_3PO_4 \cdot 24WO_3 + 10H_2O$. Az arginint oldatából phosphorwolfrámsav úgyszólván tökéletesen kicsapja. Ha argininnitrátoldatot phosphorwolfrámsavval elegyítünk és ásványsav nincs jelen, a phosphorwolframat apró prizmákban válik ki, melyek forró vízben elég könnyen oldhatók és a képletben kifejezett összetételűek. Ásványsavak jelenlétében túrós csapadék jelenik meg, mely lassan kristályossá válik. Nagyon tömény argininoldatokban phosphorwolfrámsav nyúlós tömeget választ ki. A csapadék a kémszer nagy fölöslegében feloldódik.

Bázisos-d-argininréznitrát. $(C_6H_{14}N_4O_2) \cdot 2Cu(NO_3)_2 + 3\frac{1}{2}H_2O$. Ha argininnitrátoldatot rézcarbonáttal főzünk, a szüredékből sötétkék tük, vagy keskeny, kihegyezett prizmák alakjában válik ki. Szobahőmérsékleten 100 s. r. víz a sóból 1·05 s. r.-t old fel s az oldat lúgos kémhatású. A kristályvíztartalmú só 112—114°-on, a víztől mentes só 232—234°-nál olvad, bomlás közben.

Bázisos-d-argininrézszulfát. $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot 2CuSO_4 + 5\frac{1}{2}H_2O$. Apró, kék tükben válik ki. Vízben könnyebben oldható mint a bázisos réznitrát.

Savanyú-d-argininezüstnitrát. $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 + AgNO_3$. Vizes oldatok lassú bepárologatásakor szintelen, ferdén lemetezett, átlátszó prizmákban kristályosodik. 100 s. r. víz 16°-nál 13·75 s. r. sőt old fel. Olvadáspontja 183°.

Bázisos-d-argininezüstnitrát. $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot AgNO_3 + \frac{1}{2}H_2O$. A savanyú sóból, a kiszámított mennyiségű báryumhydroxid-oldattal keletkezik és szintelen, átlátszó prizmacsoportokban válik ki. 100 s. r. víz 16°-nál 1·3 s. r. sőt old fel. Az oldat lúgos kémhatású.

d-argininezüstsó. $3 \cdot C_6H_{12}Ag_3N_4O_2 \cdot H_2O + C_6H_{11}Ag_3N_4O_2 \cdot H_2O$. Nem bizonyos, hogy egységes vegyület-e. Akkor áll elő, ha argininnitrát 1 mol.-nyi vizes oldatába 2 mol. ezüstnitrátot csepegtetünk s most a salétromsavat a szükséges mennyiségű nátrium- vagy báryumhydroxiddal kötjük meg. A levegőből széndioxidot szív és a világosságon megbarnul. Savakban és ammoniában könnyen, vízben nehezen oldódik.

Dibenzoyl-d-arginin. $C_6H_{12}(C_6H_5 \cdot CO)_2N_4O_2$. Hosszú, rhombos tük, vagy táblákban állítható elő. Olvadáspontja bomlásközben 217·5—218°. 750 s. r. vízben oldódik.

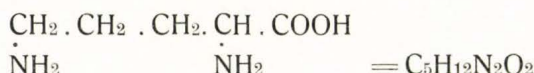
d-argininpikrát. $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot C_6H_3O(NO_2)_3$. Hosszú, keskeny selyemfényű, aransárga tükben kristályosodik. Olvadáspontja 205—206°. 100 s. r. víz 16°-on 0·49 s. r. pikrátot old.

d-argininpikrolonát. $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot C_{10}H_8N_4O_5 + H_2O$. Sárga kristályos csapadék, mely akkor keletkezik, ha arginincarbonát vizes oldatát pikrolonsav vizes oldatával elegyítjük. 100 s. r. víz 16°-on 0·05 s. r.-t old fel. Olvadáspontja 231°.

d-arginin methylaetherchlorhydrát. $C_7H_{16}N_4O_2 \cdot 2HCl$. Argininből és

methyllalkoholból keletkezik száraz sósav hatására. Olvadáspontja erős habzás közben kb. 195° . Vízben nagyon könnyen, hideg methyllalkoholban és forró alkoholban könnyen oldódik, a többi szerves oldószerben oldhatatlan. Vizes oldata savanyú kémhatású. Minthogy az arginin bomlása következtében gyakran találkozhatunk a *d*-ornithinnel is, szükséges fontosabb sajátságait megismernünk.

d-ornithin (*α-ε*-diamino-valeriánsav).



Fizikai és kémiai sajátságai. Erősen lúgos kémhatású, vízben nagyon könnyen, alkoholban nehezen oldható tömeg. Vizes oldata ezüst-oxidot és rézoxidot könnyen old.

Jellemző származékai:

d-ornithinchlorhydrát. $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2 + 1\frac{1}{2} \text{HCl}$. Tömény vizes oldatából alkohol nedvességet szívó kristálytömeg alakjában választja le.

d-ornithindichlorhydrát. $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl}$. Vizes oldatából sugaras kristályhalmazokban válik ki. 5% -os vizes oldatában $[\alpha]_D^{20} = +16.8^{\circ}$.

d-ornithinchloroplatinát. $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{PtCl}_6$. Apró, halványsárga, vízben könnyen oldható kristályok.

d-ornithinpikrát. $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2, \text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O}$. Csillagmódra elhelyezett sárga prizmák, vagy nagy lemezalakú kristályok. Olvadáspontja $198-199^{\circ}$.

Dibenzoyl-d-ornithin. (*Ornithursav*.) $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2(\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CO})_2$. Jaffé tyúkok ürülékében találta, mikor benzoësavat etetett velők. Egyébként az ornithinből mint a többi aminosav benzoylszármazéka, könnyen előállítható. Apró, színtelen tűkben válik ki. Forró vízben is nagyon nehezen oldható, éterben oldhatatlan, jobban oldható eczetéterben, legjobban forró alkoholban. Olvadáspontja $185-186^{\circ}$. Sósavval részlegesen hidrolizálva *δ*-benzoylornithint kapunk, báryumhydroxiddal főzve az *α*-amino-sav és benzoylcsoport között lévő kapcsolat oldódik fel.

V. Diamino-polyoxy-monocarbonsavak.

C₁₂H₂₆N₂O₅ összetételű sav.

A kazein hidrolizisénél fedezte fel Fischer E. és Abderhalden E.¹ és egyelőre *l*-diaminotrioxydodecansav-nak nevezte el. Szerkezete még nincs kiderítve. Lehet, hogy nem is egységes termék.

¹ Fischer E. és Abderhalden E. Zeitschrift f. physiolog. Chem. 42, 540 (1904).

Fizikai és kémiai tulajdonságai. Forró vízből gömbös halmazokban csoportosult lemezek. Olvadáspontja bomlás közben 255° körül van. Vizes oldata gyengén savanyú kémhatású és kesernyész ízü. Híg savakban könnyen oldódik. 5%-os vizes oldatának forgatótehetsége kb. $[\alpha] = -9^{\circ}$.

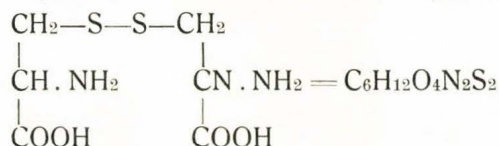
Jellemző származékai:

Réz-só. $C_{12}H_{24}O_5N_2Cu$. Molekulasúlya 339.78. Halványkék lemezekben válik ki, melyek vízben elég nehezen oldódnak. Az oldat sötét-kék színű.

Chlorhydrát. Finom tűkben válik le, ha az aminosavnak forró só-savas oldatát lehűtjük.

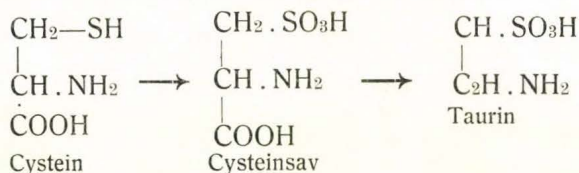
VI. Kéntartalmú aminosavak.

l-Cystin (l- α -diamino- β -dithio-dilactylsav).



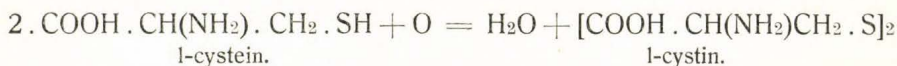
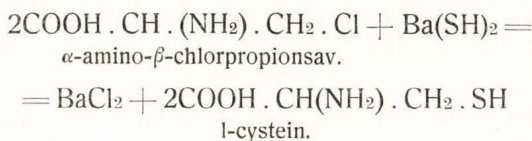
Molekulasúlya: 240.26. Összetétele: 29.97% C, 5.03% H, 11.65% N, 26.69% S.

A cystint Wollaston (1810-ben) fedezte fel húgykőben, később Külz, Emmerling és Möerner találták meg a proteinek hidrolízis termékei között. Talán állandóan van a vizeletben; kóros állapotban (cystinuriában) nagyobb mennyiségben jelentkezhetik, sőt néha az összes szervezetben felhalmozódik. Kémiai szerkezetét Friedmann és Neuberg egyidejűleg derítették fel. Friedmann a cystin redukálásakor keletkező cysteint brómmal oxidálva, cysteinsavvá alakította át. Ez ismét vízzel $235-240^{\circ}$ -ra hevítve, széndioxydra és taurinra bomlik.



Neuberg cysteinből salétromsavval (1.2 fajsúly) a vízfürdő hőmérsékletén, majd báryumhydroxiddal isäthionsavas báriumot $[\text{CH}_2(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{SO}_3]_2\text{Ba}$ állított elő. Ezekből az átalakulásokból következtetett szerkezet helyességét Erlenmeyer úgy igazolta, hogy a dl-benzoyl-serinéterből phosphorpentasulfiddal előállított egy terméket, mely sósavval főzve cystint eredményezett. Végül Fischer E. és Raske H. az l-serinből kiindulva állította elő az l-cystint. l-serinmethyleterchlorhydrátot phosphorpentachloriddal α -amino- β -chlorpropionsavmethyleterchlor-

hydráttá $\text{Cl} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2\text{HCl}) \cdot \text{COOCH}_3$ alakítottak. Ebből sósavas hidrolízis révén az α -amino- β -chlorpropionsav $\text{Cl} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{COOH}$ keletkezett, mely vizes oldatban báryumhidrosulfiddal $1\frac{1}{2}$ óra hosszat 100° -on hevítve ammonia hozzáelegyítése és a levegő oxigénjének hatására l-cystinné alakult:



Minthogy az l-serin ismét a d-alaninnal térbeli elhelyezésben megegyezik, ezzel a reakcióval az l-cystinhez való viszonyuk is meg van állapítva.

Fizikai és kémiai tulajdonságai. Kétféle kristályalakban ismeretes: hexagonális táblákban és ritkábban prizmákban. Ha chlorhydrátjából állítjuk elő a cystint, mindig az előbbi kristályalakban válik ki. Vízben nehezen oldható (9000 s. r.), alkoholban oldhatatlan, könnyen oldódik ásványsavakban és oxalsavban, ellenben eczetsavban és borkősavban nem. Alkáliákban, normális és savanyú carbonátokban és ammoniában szintén oldható, de ammoniumcarbonátban oldhatatlan. Lúgos, különösen pedig ammoniás oldatából a cystin eczetsavval leválasztható. $[\alpha]_D^{20} = -222^\circ$ normális sósavas oldatban.

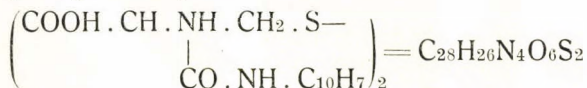
A cystint phosphorwolfrámsav kicsapja. Felismerésére alkalmas az ólomsulfidos próba. E célból a vizsgálandó anyagot lúgos oldatban ólomsó jelenlétében főzzük, nemsokára megbarnul az oldat és ólomsulfid válik le. A reakció nem teljes, mert hosszabb forralás után is a cystinben levő kénnek kb. csak $\frac{2}{3}$ -da vesz részt az ólomsulfid létesítésében. A cystin sósavval és ónnal redukálva cysteinné alakul.

Jellemző származékai:

l-cystindimethyléterchlorhydrát. $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{HCl}$. Molekulasúlya 341.23. Szintelen, némelykor több cm. hosszú prizmákban válik le. Olvadáspontja bomlás közben 173° . Vízben rendkívül könnyen oldódik, s az oldat savanyú kémhatású. Könnyen oldódik meleg methylalkoholban, nehezebben aethylalkoholban, nagyon nehezen eczetéterben és benzolban, úgyszólván semmit éterben és petroleuméterben. $[\alpha]_D^{20}$ 3 illetőleg 6% -os methylalkoholos oldatban $= -38.0^\circ$, illetőleg -38.4° . Vizes oldatának forgatótehetsége valószínűleg hidrolízis következtében lassan emelkedik.

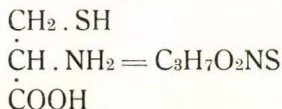
l-dibenzoylcystin. $C_6H_{10}N_2S_2O_4(C_7H_5O)_2$. Molekulasúlya 480·32. Ha 1 g. cystinnek nátronlúgos oldatát 10 cm³ benzoylchloriddal rázzuk, a dibenzoylcystinnek selyemfényű lemezekben kristályosodó nátriumsója létesül. A sónak híg oldatából megsavanyításkor sűrű pelyhekben válik ki a dibenzoylszármazék. Finom, kárfiolhoz hasonló halmazokká csoportosult tűkben kristályosodik forró alkoholból. Olvadáspontja 180—181°. Vízben oldhatatlan, éterben kissé, alkoholtartalmú éterben jobban, alkoholban könnyen oldódik. A termelés majdnem megüti a számított értéket. Lúgokkal több óra hosszat 100°-ra hevítve kéntartalmából veszít, akárcsak a cystin maga. Önnel és sósavval redukálva cystein és benzoësav keletkezik belőle. A bányumsója 5 molekula kristályvizet tartalmaz és hajlékony finom kristályokban válik ki, melyek vízben is, alkoholban is oldódnak. Az ezüstsó pelyhes, alaktalan csapadék; meleg ammoniában könnyen oldódik.

α-naphtylisocyanat-*l*-cystin.



Molekulasúlya 578·39. 1·2 g. cystinből, mely 10 cm³ normális káliumhydroxidban és 100 cm³ vízben van oldva és 2 g. *α*-naphtylisocyanátból a számított mennyiségben keletkezik. A szüredék megsavanyítása után terjedelmes csapadék áll elő, mely vákuumban phosphor-pentoxyd fölött erősen összezsugorodik. Nátriumsója elég nehezen oldódik és szépen kifejlett tűkben válik ki. A naphtylisocyanat-*l*-cystinéter ammoniás oldata bányumsókkal kristályos, calciumchlorid és magnesium-szulfátoldattal alaktalan csapadékot létesít. Erős alkálifémhydroxidok a nehezen oldható alkálifémsókat választják le.

l-cystein.

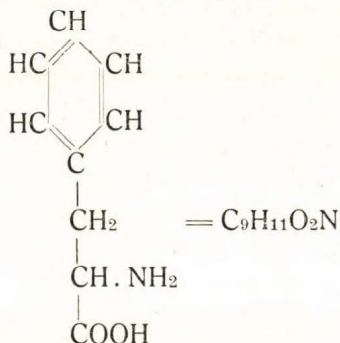


Molekulasúlya 121·14. Összetétele 29·72% C, 5·82% H, 11·57% N, 26·47% S.

A cystin redukciójakor keletkezik. Erős bázis. Könnyen oldódik vízben, ammoniában, eczetsavban és ásványsavakban. A levegő oxigénjének hatására könnyen visszaalakul cystinné. A chlorhydrát forgatóképessége $[\alpha]_D = -12·6^\circ$. Sósavas oldatából mercurichlorid-oldat teljesen kicsapja a $2\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$. HgCl_2 összetételű vegyület alakjában, mely hideg vízben és alkoholban oldhatatlan, a forró oldószerekben kissé oldható. Vízzel forralva, elbomlik.

B) Aromás aminosavak.

l-phenylalanin (*l*- β -phenyl- α -aminopropionsav, α -aminohydrofahéjsav).



Molekulasúlya 165·10. Összetétele: 65·41% C, 6·72% H, 19·38% O, 8·49% N.

Schulze és Barbieri fedezték fel ethiolált *Lupinus* (csillagfürt) csirákban (1881). A *dl*-phenylalaninnak több szintézise ismeretes. Legkönnyebben létesíthető a Fischer E.-féle módszer szerint, mely a benzylmalonsavból $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \begin{smallmatrix} \text{COOH} \\ \text{COOH} \end{smallmatrix}$ indul ki. Éteres oldatában a vegyület könnyen vesz fel α -helyzetben brómot. A keletkező benzylbrómmalonsavat $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CBr} \cdot \begin{smallmatrix} \text{COOH} \\ \text{COOH} \end{smallmatrix}$ ha 125—130°-ra hevítjük, széndioxidot veszít és β -phenyl- α -brompropionsavvá $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHBr} \cdot \text{COOH}$ alakul, mely ammonia hatására *dl*-phenylalanint létesít. Az utóbbi formylszármazéka a brucinsójának segítségével optikailag hatásos alkotórészeire bontható.

Fizikai és kémiai sajátosságai. Gyöngyházfényű lemezekben kristályosodik, melyek hideg vízben elég nehezen, forró vízben könnyen oldódnak. Íze kesernyős. Methylalkoholban kevésbé oldódik, a többi oldószerben oldhatatlan. Hajszálcsőben hevítve, bomlás közben 283° körül olvad. $[\alpha]_D^{20}$ vizes oldatban = —35·1°. Salétromsavval főzve, a phenylalanin oldata sárga színt ölt (xanthoproteinreakció). Kimutatására alkalmas a phenylacetaldehyd-próba: ha phenylalanint 25%-os kénsavval és kevés kaliumbichromáttal főzünk, a phenylacetaldehyd szaga érezhető.

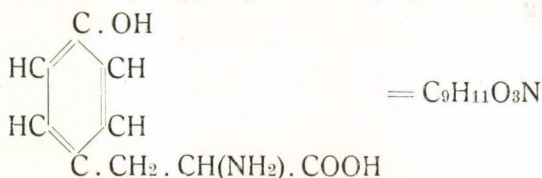
Jellemző származékai:

l-phenylalaninchlorhydrat. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$. Csaknem oldhatatlan tömény sósavban.

l-phenylalanin-phenylisocyanat. $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{COOH}$
 $\text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$.

Keletkezik, ha phenylalanint nátriumhydroxid jelenlétében phenylisocyanáttal rázunk. A szüredék megsavanyításakor kiváló terméket forró vízből kristályosítjuk át. Színtelen tűkben válik ki, melyek 182° körül olvadnak. Hideg vízben és éterben csaknem oldhatatlan, forró alkoholban könnyen oldódik. $[\alpha]_D^{20}$ alkalikus oldatban $= +61.25^{\circ}$.

l-tyrosin, *l*-p-oxyphenyl- α -aminopropionsav.



Molekulasúlya 181.10. Összetétele: 59.64% C, 6.12% H, 7.74% N.

A tyrosint Liebig fedezte fel 1846-ban, A dl. alak szintézisét a phenylalaninból kiindulólág Erlenmeyer és Lipp hajtották végre. A phenylalanin salétromsavval p-nitrophenylalanint létesít, mely ön és sósavval redukálva p-aminophenylalanint ad. A keletkező chlorhydrát alkoholos oldatából salétromossav hatására főzés után tyrosin keletkezik. A dl-tyrosin benzoylszármazékát a brucin vagy cinchonin sójának segítségével optikailag hatásos alakokra lehet bontani.

Fizikai és chemiai sajátságai. A tyrosin forró vízből hosszú vékony tűkből álló kévékben kristályosodik. Olvadáspontja bomlás közben $314-318^{\circ}$ körül van. 20° -on feloldásához 2454 s. r., forraláskor pedig 154 s. r. víz szükséges. Könnyen oldódik alkáliákban, alkalifémcarbonátokban és savakban. Tiszta állapotban eczetsavban oldhatatlan. $[\alpha]_D^{20}$ 21%-os sósavban $= -8.64^{\circ}$, 4%-os sósavban 13.2° . A tyrosin vizes oldata Millon-féle kémszerrel (mercurinitrát-oldat, melyben salétromossav van) csapadékot idéz elő, mely melegítve megvörösödik. A tyrosin jelenléte okozza a proteineknek is megvörösödését a kémszer hatására. Ha tyrosint néhány csepp tömény kénsavban oldunk, az oldatot vízbe öntjük, báryumcarbonáttal közömbösítjük s a szüredékbe közömbös ferri-chloridoldatot cseppentünk, ibolyaszíneződés keletkezik (Pyria-féle próba). Ha tyrosinkristályokat 1 térfogat formalin, 45 térfogat víz és 55 térfogat tömény kénsav elegyének néhány cm^3 -ével elegyítjük, az oldat forralásakor zöld színeződést kapunk (Denigès-Mörner-féle reakció).

Jellemző származékai:

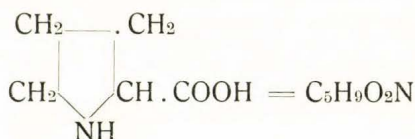
Benzoyl-l-tyrosin. $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_4$. Forró vízből fénylő lemezekben kristályosodik. Olvadáspontja $165-166^{\circ}$. $[\alpha]_D^{20}$ 8%-os lúgos oldatban $= +19.25^{\circ}$; 5%-os lúgos oldatban $= +18.29^{\circ}$.

Dibenzoyl-l-tyrosin. $C_{23}H_{19}O_5N$. Mikroszkópos kristályok. Olvadáspontja $211-212^\circ$. Alkoholban könnyen, vízben nehezen oldható.

Di- β -naphtalinsulfo-l-tyrosin. $C_{10}H_7 \cdot SO_2 \cdot O \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH(COOH) \cdot NH \cdot SO_2 \cdot C_{10}H_7$. Tyrosint nátriumhydroxid jelenlétében β -naphtalinsulfochlorid éteres oldatával rázva, a β -naphtalinsulfo-l-tyrosin nehezen oldható nátriumsója válik ki, pelyhes csapadék alakjában. Forró vízből átkristályosítva tűkben válik ki, melyek 50 s. r. forró vízben oldódnak, hideg vízben pedig nehezen oldhatók. Forró víztartalmú methylalkoholban oldható, alkoholban nagyon nehezen, éterben, benzolban, eczetéterben egyáltalában nem oldódik. Hajszálcsőben hevítve 250° -on összeomlik és $252-254^\circ$ -on, gázfejlődés közben, megolvad. A nátriumsóból sósav segítségével a szabad sav válik ki. Ez forró vízben is nehezen oldható, ellenben forró alkoholban elég jól oldódik. Forró vizes alkoholból mikroszkópos tűkben válik ki. Az oldat lassú kihűlésekor nagyobb fűrtös halmazok és apró lemezekből összerakott kötegek keletkeznek. Olvadáspontja nem éles: $100-102^\circ$ -on megpuhul és 120° -on teljesen megolvad, $145-150^\circ$ fölött elbomlik. A di- β -naphtalinsulfo-l-tyrosint forró hígított ammoniában oldva, kihűléskor több milliméter hosszú tűkből összerakott elágazó csoportokban válik ki az ammoniumsó. A báryumsó forró vízben is nehezen oldható.

C) Heterocyclusos aminosavak.

l-prolin (l- α -pyrrolidincarbonsav).



Molekulasúlya 115.08. Összetétele: 52.14% C, 7.88% H, 12.17% N.

A prolint Fischer Emil fedezte fel a kazein hidrolizisekor 1901-ben. A dl-prolin szintéziséhez több út vezet, azonban sokáig nem sikerült a racémalakot optikailag hatásos aminosavakra bontani. Fischer Emil és Zemplén Géza a m-nitrobenzoylpiperidin oxidációja révén képződő δ -m-nitrobenzoylaminovaleriánsavat $\text{NO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$ α helyzetben brómozták s a keletkező δ -m-nitrobenzoyl- α -bromvaleriánsavat $\text{NO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{Br} \cdot \text{COOH}$ normális nátriumhydroxid hatására dl-m-nitrobenzoylprolinná $\text{NO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{COOH}$ alakították át. Utóbbi terméket a cinchonin sójának segítségével az optikailag hatásos aminosavakra bontották.

Fizikai és kémiai sajátságai. Alkoholos oldatából éterrel lassan kicsapva lapos tűkben kristályosodik. Olvadáspontja $206-209^\circ$ bomlás

közben. Vízben rendkívül könnyen oldható s az anyag maga nedvességet szí. Alkoholban is könnyen oldódik, éterben oldhatatlan. Az oldata pyrrolidin szagú. $[\alpha]_D^{20}$ 7.39°/o-os vizes oldatban = -77.40°. A szintézissel létesített termék olvadáspontja 215—220°; forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20}$ 6.46°/o-os vizes oldatban = -80.9°, lúgos oldatban = -93.0° (2.35°/o-os oldat, 3 s. r. nátriumhidroxid és 2 s. r. víz). Phosphorwolframsav már 1/2°/o-os vizes oldatából kiválasztja; a keletkező kristályos csapadék forró vízben oldódik.

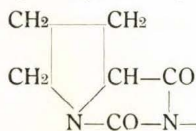
Jellemző származékai:

l-Prolinrézsó. $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu$. Molekulasúlya: 291.72.

Alkoholból sötétkék, gyakran több milliméter hosszúságú táblákban kristályosodik. Jól hasad, nagyon nedvesedő. Könnyen oldódik vízben és alkoholban. Ezzel ellentétben a dl-prolin rézsója vízben sokkal nehezebben oldódik, 2 mol. kristályvizet tartalmaz, alkoholban pedig teljesen oldhatatlan. Ez a tulajdonság a két prolin elválasztására nézve nagy fontosságú.

Phenylisocyanat-l-prolin. Rosszul kristályozó csapadék, mely előáll, ha a nátriumhydroxidos prolinoldatot phenylisocyanáttal rázunk és megszűrjük. Ha a csapadékot 4°/o-os sósavval bepárolgatjuk, a jól kristályozódó

Phenylisocyanat-l-prolinanhydrid (hydantoin)



$= C_{12}H_{12}O_2N_2$ (Molekulasúlya 216.12)

származik. Alkoholból, acetontól vagy éterből apró prizmákban, forró vízből lapos tűkben kristályosodik. Olvadáspontja 143° (korr. 144°). 110 s. r. forró vízben oldódik, könnyebben forró alkoholban és acetontban, nehezebben éterben.

β-Naphtalinsulfo-l-prolin. $C_{10}H_7 \cdot SO_2 \cdot N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot COOH$.
Molekulasúlya: 305.83.

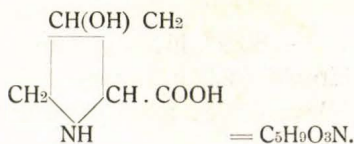
Forró vizes alkoholból, vagy vízből vékony, sokszor centiméterhosszú lemezekben válik ki. 1 molekula kristályvize van, mely 90°-on elszáll, 80°-on összeomlik és 132° (korr. 133.7°)-on olvad meg. A víztől mentes anyag összeomlás nélkül 136° (korr. 138°)-on olvad. 130 s. r. forró vízben oldódik, hideg vízben nehezen. Alkohol könnyen, éter nehezebben oldja.

l-m-Nitrobenzoylprolin. $C_{12}H_{12}O_5N_2$. Molekulasúlya: 264.12.

(A d-m-nitrobenzoylprolin adatai szerint.) Vizes oldatából mikroszkópos prizmákban válik ki. Olvadáspontja 137—140°. Éterben és vízben nehe-

zebben oldható, mint a racém-vegyület. $[\alpha]_D^{20} = +120^\circ 3'95''$ -os normál nátriumhydroxidos oldatban.

l-Oxyprolin (*l*- γ -Oxy- α -pyrrolidincarbonsav).



Molekulasúlya: 131·08. Összetétele: 45·77% C, 6·19% H, 10·68% N.

Az enyv hidrolizise alkalmával Fischer Emil¹ fedezte fel. Szintézisét legújabbán hajtotta végre Leuchs.²

Fizikai és kémiai tulajdonságai. 1 rész forró vízből jól kifejtett rhombos táblákban kristályosodik. Olvadáspontja habzás és barnulás közben 270° körül van. Nagyon könnyen oldódik vízben, nagyon nehezen alkoholban. Íze nagyon édes. $[\alpha]_D^{20} = -81'07''$, 9·3%-os vizes oldatban. Hydrogénjoddal redukálva, vörösfoszfor jelenlétében, dl-prolinná változik.

Jellemző származékai:

l-Oxyprolinrézsó. Sötétkék tűkben válik ki. Könnyen oldódik vízben, oldhatatlan alkoholban.

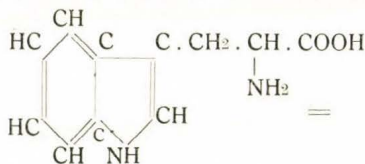
Phenylisocyanat-l-oxyprolin. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{N}_2$. Molekulasúlya: 250·13.

Oxyprolinból $1\frac{1}{4}$ mol. nátriumhydroxid jelenlétében, 0° -on phenylisocyanattal rázva keletkezik. Színtelen tűkben kristályosodik. Olvadáspontja bomlás közben 175° . Aránylag könnyen oldódik vízben és alkoholban, nehezen éterben.

β -Naphtalinsulfo-l-oxyprolin. $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_5\text{NS}$, H_2O .

Molekulasúlya 339·23. Kristályvize 85° -nál száll el. Forró vízből vékony lemezekben kristályosodik. 86° -on összeomlik és 90 — 91° (korr. 91 — 92°)-on megolvad. Nehezen oldódik hideg vízben, oldható 25 s. r. forró vízben, nagyon könnyen alkoholban, elég könnyen éterben.

l-Tryptophan (*l*- β -Indol- α -aminopropionsav).

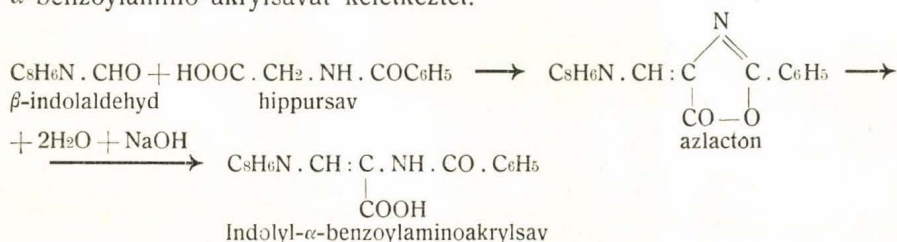


Molekulasúlya: 204·12. Összetétele: 64·67% C, 5·93% H, 13·72% N.

¹ E. Fischer: Berichte 35, 2660 (1902).

² H. Leuchs und J. F. Brewster: Berichte 46, 986—1000 (1913).

A proteinek bomlástermékei közül Hopkins és Cole állították elő először tisztán.¹ Létezését már régóta gyanították, mert a proteineket emésztőoldatokkal (tripszinnel) kezelve, az oldat próbája bromvízzel vörösibolya színeződést adott bizonyos idő múlva. Ez a színeződés a tryptophan jelenlététől ered. Hopkins és Cole rájöttek, hogy az aminosav 5%-os kénsavas oldatban mercurisulfatoldattal kicsapható s így előállítása sikerült. A dl-tryptophant már szintézis útján is előállították, de optikailag határos alakokra még nem bontották szét. Ellinger és Flama nd a β -indolaldehdyből indultak ki. Hippursavval ez azlactont létesít, mely híg nátriumhydroxiddal főzve, a víz elemeit felvéve, indoly- α -benzoylamino-akrylsavat keletkeztet.



Utóbbi termék alkoholos oldatban nátriummal redukálva dl-tryptophant létesít.

Fizikai és kémiai sajátságai. Vízből lemezekben kristályosodik. Hajszálcsőben hevítve, 260° körül megsárgul és 289° -on megolvad. Hideg vízben elég nehezen, forró vízben könnyen oldódik. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6.3^{\circ}$ $1/2$ normál nátronlúgos oldatban; $[\alpha]_{\text{D}} = +1.31^{\circ}$ normál sósavban és körülbelül -30° vízben.

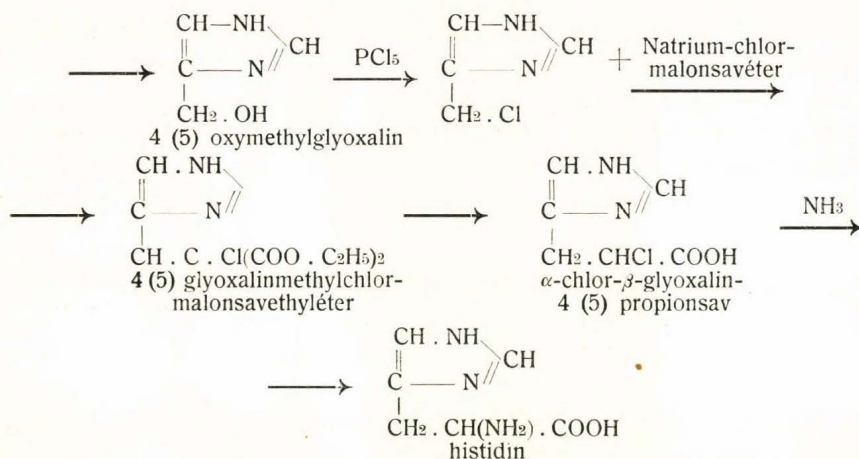
Tryptophanoldathoz brómvizet cseppentve, violaszínű oldat létesül. Ha tryptophan vizes oldata alá óvatosan tömény kénsavat rétegezzünk, majd glyoxylsavat teszünk hozzá, a két réteg érintkezési felületén ibolyaszínű gyűrű keletkezik; ha a folyadékot összerázzuk, egészen ibolyaszínű lesz. Millon-féle kémilőszerez barnavörös színű, erős salétromsavval főzve pedig sárga lesz. Aldehydekekkel szép színreakciókat kapunk. p-Dimethylaminobenzaldehid híg kénsavas oldatával és tömény kénsavval elegyített tryptophanoldat ibolyavörösre színeződik, mely nemsokára sötétibolyába megy át. A tryptophan cukorral és tömény sósavval főzve, a Lieberman-n-féle¹ reakcióra emlékeztető ibolyaszínt ölt.

Jellemző származékai:

Phenylisocyanat-l-tryptophan. $C_{18}H_{17}N_3O_3$. Methylalkoholos oldatából vízzel kicsapva, finom tűkben kristályosodik. Olvadáspontja 166° .

¹ F. Gowland Hopkins és Sydney W. Cole: Journal of Physiology, 27, 418 (1901); 29, 451 (1903).

¹ Sósavval főzve az alkohollal és étérrel előzőleg megtisztított proteinek, ibolya-ibolyakék színeződést öltenek.



Fizikai és kémiai sajátságok. Víztartalmú alkoholból, vagy vízből leveles kristályokban válik ki. Olvadáspontja bomlás közben 253° közelében van. Vízben könnyen oldódik; az oldat kémhatása lúgos. Alkoholban kissé oldódik, éterben egyáltalában nem. Forgatóképességét a következő táblázat mutatja:

Sósavmolekulák száma, mely 1 molekula histidinre esik	Koncentráció	$[\alpha]_D$	$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ -re számítva	Monochlorhydrátra számítva	Dichlorhydrátra számítva
0	3.183	- 7.59	- 39.74	—	—
1	2.594	+ 0.18	+ 2.14	+ 1.74	—
2	4.828	+ 1.54	+ 7.82	—	+ 5.32
4	3.38	+ 1.31	+ 9.49	—	+ 6.46

Phosphorwolframsav vizes oldatában olyan csapadékot idéz elő, mely a kémszer fölöslegében oldható. A szabad, vagy salétromsav jelenlétében vízben oldott bázis ezüstnitráttal létesít csapadékot. Ha azonban az oldatba óvatosan ammoniát cseppentünk, megjelenik az alaktalan ezüstsó. A histidincarbonat még nagyon híg oldatokból is kicsapódik mercurichloriddal, ha alkalifémsók nincsenek jelen. Híg kénsavas oldatból mercurisulfatoldattal kiválik; e tulajdonsága alapján a diamino- és monoaminosavaktól elválasztható. Adja a biuretreakciót. A histidint még proteinben kötött állapotban is ki lehet mutatni az Ehrlich-Burián-féle reakcióval. A histidin ugyanis diazoniumsókkal azofestékeket létesít, melyek még 1:100,000 való hígításban is jól felismerhetők. E célból a szódával lúgossá lett oldatot diazobenzolsulfosavval elegyítjük. A vörös szín előtünése a histidin jelenlétét bizonyítja, feltéve, hogy a Millon-

féle reakció elmarad. A kémszer úgy készül, hogy 2 g. finom porrá dörzsölt sulfanilsavat 3 cm³ víz és 2 cm³ tömény kénsav elegyében oldunk és rázás, majd hűtés közben apró részletekben 1 g. friss káliumnitritnek 1—2 cm³ vízben készült oldatával elegyítjük. A diazobenzolsulfosav ilyenkor kristályos csapadék alakjában válik ki. A reakcióhoz mindig friss szódás oldatot készítünk belőle.

Jellemző származékai:

l-Histidinezüstsó. Összetétele 100^o-nál megszáritva: C₆H₇O₂N₃Ag₂, H₂O Molekulasúlya: 383·86. Alaktalan csapadék, melyet ammoniás ezüsnitrátoldat idéz elő a histidinnek vagy sóinak oldatában. Ammonia fölöslegében könnyen oldódik.

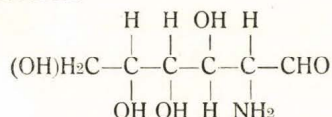
l-Histidinmonochlorhydrát. C₆H₉O₂N₃·HCl, H₂O. Molekulasúlya: 209·59. Összetétele: 34·37^o/_o C, 5·72^o/_o H, 20·05^o/_o N, 16·94^o/_o Cl, 8·59^o/_o H₂O. Üvegfényű, vaskos, rhombos prizmákban válik ki. A dichlorhydráttal izomorf. A kristályvíz 165^o-on vákuumban kiűzhető. 160—165^o-on megpuhul, 255^o-nál megolvad. Ha a monochlorhydrát finom porát 2 s. r. tömény sósavval öntjük le, eleinte a tömeg feloldódik, rövid idő múlva a dichlorhydrát kristályai válnak ki.

l-Histidindichlorhydrát. C₆H₉O₂N₃·2HCl. Molekulasúlya: 228·04. Összetétele: 31·58^o/_o C, 4·82^o/_o H, 18·42^o/_o N, 31·14^o/_o Cl. A monochlorhydrátból tömény sósav hatására keletkezik. Nagy rhombos prizmákban válik ki, melyek a monochlorhydráttal izomorfok. Az egyik sósavmolekula itt valószínűleg a kristályvíz szerepét viszi. Hígított sósavból átkristályosítható. 2 s. r. forró vízből mono- és dichlorhydrát keveréke válik ki. Ha vizes oldatát néhány perczig forraljuk, tiszta monochlorhydrát keletkezik. Összeomlás nélkül 245^o-nál olvad.

l-Histidinmonopikrolonat. C₆H₉N₃O₂·C₁₀H₈N₄O₅. Molekulasúlya: 419·21. Összetétele: 45·80^o/_o C, 4·09^o/_o H, 23·40^o/_o N. 1 mol. alkoholos pikrolonsav oldatának hatására keletkezik 1 mol. histidin vizes oldatában. Sárga mikroszkópos tűkben válik ki. Gyorsan hevítve 232^o körül bomlik el. 80 s. r. forró és körülbelül 500 s. r. hideg vízben oldódik.

l-Histidindipikrolonat. C₂₆H₂₅N₁₁O₁₂ = C₆H₉N₃O₂·(C₁₀H₈N₄O₅)₂. Molekulasúlya: 683·3. Histidinmono- vagy dichlorhydrát vizes oldatának és pikrolonsav alkoholos oldatának összeelegyítésekor keletkezik. A reakció nem olyan mennyiségi jellegű, mint a monopikrolonát keletkezése. Narancs-sárga kristályokban válik ki. Hajszálcsőben hevítve 225^o-on barnul és 265^o körül teljesen elbomlik. 150 s. r. forró vízben oldódik.

Függelékképpen megemlíthetjük, hogy a glükoproteidok hidrolíziskor *glükózamint is* keletkeztetnek.



Savakkal főzve a proteinekből aminosavak mellett nagyon hiányosan ismert úgynevezett huminanyagok is létesülnek.

A proteinek és aminosavak átalakulásai az élő szervezetben.

A proteineket az élő szervezet minduntalan hidrolízissel és újból szintézissel változtatja; a hidrolízis folyamán keletkező termékek egy részét feldolgozza, s így az élő szervezetben a proteinek átalakulási és bomlási termékei sokkal változatosabbak, mint azt az egyszerű hidrolízisnél láttuk. Ezen átalakulások legtöbbje bizonyára enzimes folyamat, melynek azonban részletesebb ismerete a kísérleti nehézségek miatt hiányos. Minthogy azonban ilyen átmeneti, illetőleg átalakulási termékekkel az enzimes reakciókeverékek vizsgálatánál gyakran találkozhatunk, rá kell mutatnom azokra a fontosabb átalakulásokra, melyek az élő szervezetben végbemennek. Vegyük első sorban az élesztőgomba munkáját. Ez erőlyes proteolitikus enzimeinek segítségével, akárcsak a savak, aminosavakig hidrolizálja a proteineket. Az aminosavakat tovább alakítja át az élesztő, a mennyiben belőlük ammoniát és széndioxidot szabadít fel, e közben pedig alkoholok létesülnek. Az ammoniát az élesztő saját proteinszükségletének felépítésénél értékesíti. Így találkozunk a bomlási termékek között az alkotó aminosavak szénlánczának kevesebb szénatomot tartalmazó homológjaival.

Az említett átalakulást bizonyítja a valin, leucin és isoleucin esete, melyekből az isobutyl, az isoamyl, illetőleg az aktiv amylalkohol létesül az élesztő munkája következtében.

A glutaminsavból lesz borostyánkősav és oxyglutársav, a tyrosinból p-oxyphenylaethylalkohol, a phenylalaninból phenylaethylalkohol, az orinthinból pedig talán a butylénglükol. Valószínűleg a tejsav is hasonló aminosavátalakulásnak köszöni jelenlétét.

A baktériumok munkája következtében a proteinmolekulában szintén fontos átalakulások mennek végbe. Legtöbbször épp úgy mint a sav, vagy a jól tanulmányozott enzimes hidrolízis esetében albumózok, peptonok, végül aminosavak jelennek meg. A baktériumok azonban ezzel az eredménnyel a legritkább esetben érik be, mert számukra éppen az aminosavak a legkedveltebb táplálóanyagok. Ennélfogva a baktériumhatás következtében az aminosavak különféle átalakuláson mennek keresztül. Vagy az ammoniájukat vesztik el az aminosavak, miközben

egyszerű savak létesülnek, máskor meg széndioxid felszabadulása közben a kapcsolatos bázisok keletkeznek; végül a baktériumok olyan bomlást is idéznek elő, mint a milyennel az élesztőnél találkoztunk, és melynek eredménye alkohol, sav, vagy oxysav. A glükocholl és az alanin baktérium okozta átalakulási termékeiről keveset tudunk; annyi bizonyos, hogy rothadási kísérleteknél gyakran észlelték hangyasavat, ecetsavat, propionsavat és némelykor methylamint. A valin, leucin és isoleucin baktériumok hatására éppen úgy átalakulhat, mint azt az élesztőnél láttuk; azonkívül rothadási kísérleteknél a jelentkező vajsav, valeriánsav és capronsav valószínűleg szintén ezekből az alapanyagokból keletkezik. Rothadó húspanban már isoamylamint is találtak. Az aszparaginsav rothadásakor borostyánkőssavat és propionsavat létesít. A glutaminsavból ilyen körülmények között vagy n -vajsav, vagy γ -aminovajsav képződik. A phenylalanin = phenylaminopropionsav ($C_6H_5 \cdot CH_2CH[NH_2] \cdot COOH$), a phenylpropionsav ($C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$) és phenylecetsav ($C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH$) közbeeső termékek után végül benzoesavvá alakul. A phenylaethylaminbázis keletkezése bizonyára szintén erre az aminosavra vezethető vissza. A tyrosin még változatosabb átalakulási terméksorozatot létesít:

tyrosin = p-oxyphenylaminopropionsav $OH \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot (NH_2) \cdot COOH$

p-oxyphenylpropionsav $OH \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$

p-oxyphenylecetsav $OH \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot COOH$

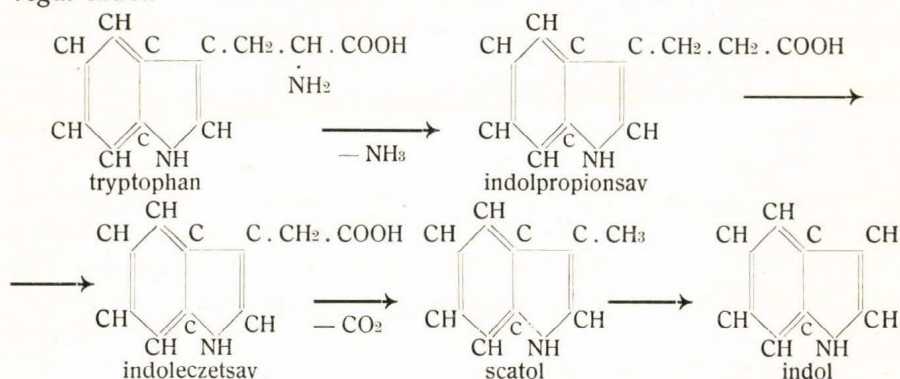
p-oxymandulasav $OH \cdot C_6H_4 \cdot CH(OH) \cdot COOH$

p-krezol $OH \cdot C_6H_4 \cdot CH_3$

phenol $OH \cdot C_6H_5$

ezenkívül a hús, sajt stb. rothadásakor p-oxyphenylaethylamint ($OH \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$) is találtak, mely nyilván a tyrosinból származik. Ismeretes ezenkívül az erjedés alkalmával fellépő tyrosol nevű alkohol is: $OH \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2(OH)$.

A tryptophán baktérium okozta átalakulási termékei az indolpropionsav (scatolecetsav), indolecetsav (scatolcarbonsav), scatol és végül indol.



A phenol, indol és scatol a legjellemzőbb rothadási származékai a proteineknek, mert szaguk révén könnyen felismerhetők és mert mint a bélrothadás végső termékei, felszívódnak és a vizeletben kénsavval vagy glükuronsavval létesített étereik alakjában válnak ki. Az urozozein, a scatolvörös és az indican nevű három, vizeletben előforduló festék keletkezését a tryptophannak és a belőle baktérium okozta rothadás útján létesült bomlási termékeknek köszönheti.

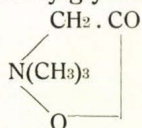
A hisztidinből imidazolylaethylamint és imidazolylpropinsavat lehetett baktériumok hatására létesíteni. Előbbi a hisztidinből széndioxid, utóbbi ammonia leválása mellett áll elő. Az ornithin tetramethylendiaminná (putrescin) $(\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2)$, azonkívül θ -aminovaleriánsavvá $(\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH})$ alakul. A lysin pentamethylendiamint (cadaverint) $(\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2)$ és talán ϵ . aminocaprinsavat $(\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH})$ létesít. Az argininből könnyen keletkezik baktériumok hatására guanidin $(\text{NH}_2 \cdot \text{C}(\text{NH}) \cdot \text{NH}_2)$, mely azonban további baktériumműködés következtében carbamiddá $(\text{NH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2)$ alakul. Ezenkívül észlelték az argininnek azt a származékát is, mely belőle egyszerűen széndioxid leválása közben keletkezik. Ez az *agmatin* $(\text{NH}_2 \cdot \text{C}(\text{NH}) \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2)$.

A cystinből rothadaskor hidrogénszulfid áll elő. E mellett talán methylmercaptan, továbbá aethylszulfid és hidrogénthioszulfát $(\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ keletkezik.

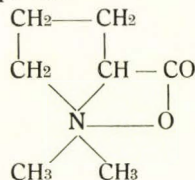
Az *Oidium lactis* nevű gomba közvetítésével könnyen átalakíthatjuk az aminosavakat a velük kapcsolatos oxysavakká.

A magasabbrendű növényeknek csirázó magjaiban játszódnak le érdekes enzimes proteolizisek. Ezek szintén aminosavakhoz vezetnek, melyeknek egy részét a fiatal növény új proteinek felépítésére használja fel, más részüket tartalékol helyezi el. Ilyen fontos tartalékaminosavakként az aszparagin és glutamin szerepelnek. Némely növényben nagy mennyiségű arginin halmozódik fel. A növényvilágban gyakran jelennek meg az aminosavaknak methylszármazékai, melyeket betainoknak neveznek.

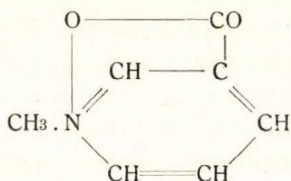
Ilyen a *betain*, vagy trimethylglykokoll



a *stachydrin*, vagy dimethylprolin



és a *trigonellin*, vagyis a nicotinsav methylbetainja.



Az aminosavszármazékok methylhelyettesítési termékei is előfordulnak a növényvilágban. Ilyen a *hordenin*, vagyis a dimethyl-p-oxyphenyl-aethylamin $\text{OH} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{CH}_3)_2$, továbbá a *tetramethyl-putrescin*. A pyrrolidinszármazékok a prolin és ornithinből veszik eredetüket. A methylezett aminosavak és aminosavszármazékok már a növényalkaloidokhoz vezetnek.

Az állati szervezet proteinszükségletét a növényvilágból, vagy pedig növényevő állatok proteinjéből veszi. Az állati testben a felvett proteinek szintén változatos átalakuláson mennek keresztül. A proteinek feldolgozása a gyomorban veszi kezdetét. Itt a pepszin kezdi a proteinmolekulák hidrolizését és belőlük peptonokat, illetve albumózokat készít. Hogy a felszívódás végbemehessen, a proteineknek tovább kell bomlaniuk. Ezt a munkát végzi a hasnyálmirigy váladékában előforduló trypszin és a bélnedvben előforduló ereptáz. Ez a folyamat már szabad aminosavakat eredményez, melyeknek egy része a bél falán gyorsan fel is szívódik. A bél falában azonban már a bomlástermékek ismét nagyobb halmazokká kapcsolódnak és az állati test szükségét kielégítő protein lesz belőlük s mint ilyen kerül a vérbe. Így érthető, miért találjuk a vérben bármifajta eredetű és bármilyen mennyiségű protein felvétele után mindég ugyanazt a proteint. Az állati szervezet tehát a proteint lebontja, épületköveiből pedig új proteint rak össze. A proteinek az anyagcserében legfontosabb vegyületek, mert se zsírral, se pedig szénhidráttal nem pótolhatók. A felhasználásuknál lejártszódo kémiai folyamatokat meglehetősen homály fedti.

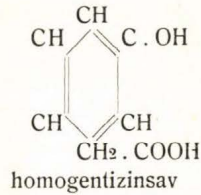
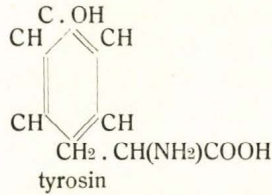
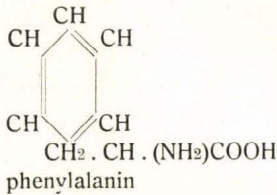
Az eddig megállapított tények röviden a következőkben vonhatók össze.

Az aminosavakból néha az ammonia leválik s a megfelelő keto-, vagy alkoholsavak, máskor ismét egyszerű savak keletkeznek. Így észlelték a tyrozinnak, p-oxyphenylpyroszölösavvá és p-oxyphenyltejsavvá, a phenylalaninnak pedig phenyltejsavvá való átalakulását. Az alanin a kísérletek alkalmával tejsavat létesít.

Egy másik reakció, melyet a leucin, tyrozin és phenylalaninnal kevert vérrel táplált májban észleltek, az *aceteczetsav* keletkezése. A termék tovább alakul és vagy acetonná, vagy pedig oxyvajsavvá redukálódik.

A phenylalanin és tyrosin kóros állapotban, az ú. n. alkaptonuria

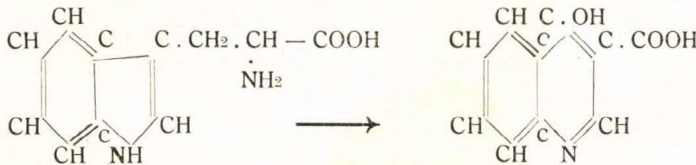
esetében sajátosságos átalakuláson mennek át, melynek eredménye a homogentizinsav.



A cystinből széndioxid leválása közben és egyúttal oxidálás útján a *taurin* keletkezik. (A reakció magyarázatát lásd a cystinnél.)

A methylszármazékok létesítésére is nyújt példát az állati szervezet. Így phosphorral mérgezett kutyák vizeletében trimethyl- γ -aminovajsavat, rákoknak izmaiban pedig betaint találtak. A húskivonatban methyl és dimethylguanidint észleltek, melyeknek jelenléte valószínűleg szintén az aminosavaknak tulajdonítható.

A tryptophanból a kutya szervezetében a *kynurénsav*, vagyis a γ -oxychinolin- β -carbonsav keletkezik.



Számos élettani megfigyelés alapján fel kell tennünk, hogy a glykocholl más aminosavakból is keletkezik.

Az aminosavaknak ammoniától megfosztott lánczai eddig teljesen ismeretlen módon glükogénné is átalakulnak. Valószínű azonban, hogy az aminosavakból a glükogénig nem összefüggő az út és hogy az aminosav előbb csaknem teljesen szétdarabolódik s csak azután kezdődik a glükogén-szintézis.

A glükocholl és az alanin szénlánczai, továbbá az asparagin és glutaminsavból három-három szénatom a szőlőcukor felépítésénél visz fontos szerepet.

Az aminosavak elválasztása és megközelítő meghatározása.

Az enzimekkel emésztett proteinoldatokban sok esetben szabad aminosavak vannak. Ezeknek elválasztása legcélszerűbben úgy történik, mint a hogy azt a savakkal végzett teljes hidrolízis alkalmával található aminosavkeverékeknél szokásos. Ha pedig olyan aminosavhalmazok keletkeznek, melyekben az aminosavak még egymással összefüggésben maradtak, ezeket kémszerekkel szemben tanúsított nehezebb oldható-

ságuk alapján a reakciókeverékből leválasztjuk s a szüredékben az aminosavakat keressük.

Az aminosavhalmazokat alkotó aminosavak felismerése céljából savakkal teljes hidrolizisnek vetjük alá a vizsgálandó anyagot s ismét az aminosavak elválasztását kell végeznünk. Ennélfogva nélkülözhetetlen a proteineknek savak okozta hidrolizistermékének elválasztásával megismerkednünk, mert nagyon csekély módosítással az eljárás az enzimes hidroliziseknél is kitűnő szolgálatokat tesz.

Glükocholl, d-alanin, l-leucin, l-prolin, l-aszparaginsav, d-glutaminsav, l-serin és l-phenylalanin leválasztása az aminosavkeverékből.

Az eljárást Fischer Emil dolgozta ki és segítségével a felsorolt aminosavakat biztosan felismerhetjük, sőt megközelítőleg meg is határozhatjuk. A reakciókeveréket, ha sósavas hidrolizis útján keletkezett, minden további eljárás nélkül feldolgozhatjuk, ha pedig enzimekkel dolgoztunk, a tömeget vizes oldatban hűtés közben sósavgázzal telítjük. A hűtéssel a termékeknek nagyobb fokú hidrolizisét akadályozzuk meg. Igaz ugyan, hogy ezáltal később az éterkeletkezést meglassítjuk. Az enzimes hidrolizisek után általában minden erősebb beavatkozástól tartózkodjunk; minden oldatot vákuumban sűrítünk be és minden hőemelkedést kerülünk. A sósavas oldatot rongyon átszűrjük, majd vákuumban besűrítjük s több napig 0°-on állani hagyjuk. Ilyenkor, ha a glutaminsavchlorhydrát nagyobb mennyiségben van jelen, kiválik s rongyon vagy még célszerűbben lövőgyapoton porcellánszűrőn leszűrhető. Az anyalúgok további besűrítése után még több glutaminsavchlorhydrátreszletet találhatunk. A glutaminsavchlorhydrátot kevés tömény sósavból kristályosítjuk át; az oldat lehűlésekor a tömeget még sósavgázzal mindig telítjük. A glutaminsav leválasztása után az anyalúgot vákuumban sziruppá párologtatjuk be. Most a maradékot súlya háromszorosának egyenlő abszolút alkohollal öntjük le és enzimmal történt hidrolizis esetén hűtés közben, különben hűtés nélkül, a tömeget sósavgázzal telítjük. A sósavgázt úgy fejlesztjük, hogy konyhasót tömény sósavval öntünk le, s a tömegre tömény kénsavat csepegtetünk. A fejlődő sósavgázt tömény kénsavval szárítjuk.

A művelet alkalmával az aminosavaethyléterek chlorhydrátjai keletkeznek. Vigyázni kell, hogy a tömeg lehetőleg teljesen feloldódjék. Sokszor ammoniumchloridból álló oldatlan maradék van a lombik fenekén, ezt különösen ha a glükochollt le akarjuk választani, szűrés útján el kell távolítani. Ha glükocholl jelenlétét sejtjük, a folyadékot vákuumban körülbelül kétharmadára sűrítjük be és néhány glükokollaethyléterchlorhydrát-kristálylal való beoltás után 24 óra hosszat 0°-on hagyjuk állani. Nagyobb mennyiségű glükocholl jelenlétében az aethyléterchlor-

hydrátnak legnagyobb része le fog válni. Az anyalúgot teljesen bepárologatjuk és háromszoros mennyiségű alkoholt elegyítve hozzá, a sósavgázzal való telítést megismételjük, hogy az éterképződés teljes legyen, mire a glükochollaethyléterchlorhydrátnak újabb részlete válik ki a kétharmadára besűrített oldatból. A kivált kristályokat az első részlettel egyesítjük és forró alkoholból átkristályosítással tisztítjuk. Az éterréalakítási műveletet esetleg még harmadszor is megismételhetjük, mi által a többi aminosavnak elválasztása egymástól tetemesen megkönnyebbül. Az anyalúgok vákuumban bepárologatván, az aminosavak étereinek szabadabbá tételére két eljárást alkalmazhatunk, a szerint, hogy az éterchlorhydrátot vizes oldatban lúgokkal, vagy alkoholos oldatban nátriumalkoholáttal bontjuk el. Az első gyakrabban használt eljárás szerint a bepárologatás után talált maradékot kevés vízben oldjuk, hűtőkeverékben erősen lehűtjük, a tömegre 2—3 térfogatnyi étert rétegezzünk s lehetőleg jó hűtés mellett (jég és sókeverék) folytonos rázás közben addig töltünk hozzá 33%-os nátriumhydroxidot, a míg az oldat gyengén lúgossá válik. Az éterek kisózása céljából száraz káliumkarbonátot szórunk a tömegbe, hatalmasan rázzuk, hogy az éter oldó hatása lehetőleg érvényesüljön, majd az éteres réteget tiszta éterrel cseréljük fel, még egy adag káliumkarbonátot, majd nátriumhydroxidot téve a tömegbe, ismét rázzuk s a műveletet addig ismételjük, a míg sűrű pépszerű tömeg keletkezik, mely fölött az éter színtelen s az éter bepárologatása után maradékot nem hagy. A b e r h a l d e n-nek és tanítványainak újabb tapasztalatai szerint célszerű az éterrel végzett kioldás után még kloroformmal oldani ki a tömeget, mely még tetemes mennyiségű aminosav-étert old ki. Az egyesített éteres oldatokat rövid ideig (5—10 percig) káliumkarbonáttal szárítjuk, majd 12 óra hosszat kiizzított nátriumszulfát fölött hagyjuk állani. A szüredékből az éter legnagyobb részét közönséges nyomáson párologatjuk el, az utolsó részleteket azonban vákuumban szobahőmérsékleten kell elűzni, különben az étergőzzel elillant aminosavétereket nem gyűjthetnők össze. E végett a hűtőkeverékkel hűtött gyűjtőben összegyűlt étert hígított sósavval oldjuk ki s a főleg glükocholl és alaninethyléterchlorhydrátból álló sósavas oldatot kapjuk, melyben a két aminosavat a lennebb ismertetett módon választjuk el.

Ha az aminosavéterek felszabadítását nátriumalkoholáttal akarjuk végezni, akkor a besűrített aminosavchlorhydrátok keverékét alkohollal ismert térfogatra hígítjuk, az oldat chlortartalmát titrimetriás, vagy még jobban gravimetriás módon megállapítjuk, s a számított mennyiségű nátriumnak 2%-os alkoholos hideg oldatával elegyítjük. A rendkívül finom alakban kiválott konyhasót frissen lecsapott állapotában szűrni nem lehet. Jégben tartva nemsokára úgy összeáll a csapadék, hogy le lehet szűrni, vagy centrifugálni. Legtöbbször nincs is szükség a

konyhasó eltávolítására, mert a desztillálást a konyhasó jelenléte nem zavarja. A tömeget 10 mm. nyomás alatt desztilláljuk. 40⁰-ig főleg alkoholból álló részletet kapunk, melyet sósavval lepárolgatunk, s kisebb mennyiségű glükokoll és alanin keverékét kaphatjuk. A nátriumalkoholátos eljárást főleg akkor alkalmazzuk, ha kisebb mennyiségű aminosavéter szabaddá tételéről van szó.

Akármilyen úton végeztük az aminosavéterek szabaddá tételét, a követendő eljárás, vagyis az aminosavéterek desztillálása már egyforma. Különösen Fischer Emil és Abderhalden Emil nagyon számos proteinhidrolizis- és aminosavélasztást végeztek. Tapasztalataik alapján legtöbbször elégséges egyetlen desztillálást végezni, melyben a következő részleteket gyűjtjük 10—15 mm. nyomás alatt:

1. részlet 60⁰-ig (a vízfürdő hőmérsékletét mérve)
2. „ 100⁰-ig.

Legkedvezőbb kettősnakú, úgynevezett Claisen-féle desztilláló lombikot használni, hajsálcső nélkül, helyette a folyadékba néhány horzsakő- vagy agyagtányérdarabkát téve. Gyűjtőknek egyszerű desztilláló lombikot használunk, melyet jég és só keverékével hűtünk. A két első részletet követi még kettő, melyeknél a nyomás csak 0.1—0.5 mm. Legjobb e célra azt a berendezést használni, melyet Fischer Emil és Harries leírtak, s melynek rajzát Bartal Aurél „Szerves vegyületek előállítása” című munkájának 183. lapján látjuk.

Ha nem áll ilyen berendezés rendelkezésre, különösen a folyós levegő hiánya miatt, bármilyen erősebb légszivattyút alkalmazhatunk, csak gondoskodnunk kell arról, hogy a légszivattyú és a jég és hó keverékével hűtött hűtő közé több tömény kénsavval töltött mosópalaczk legyen iktatva, melyek a lúgos aminosavgőzőket teljesen visszatartják. Az alacsony nyomásnál tehát még a következő két részletet desztilláljuk:

3. részlet 100⁰-ig
4. „ 180⁰-ig.

A három első részletet visszacsepegő hűtővel felszerelt lombikban 10-szeres mennyiségű vízzel főzve rögtön bontjuk, mert különben az aminosavéterek könnyen piparazinokká alakulnának át. A főzés addig tart, a míg az oldat lúgos hatását teljesen elvesztette. Ez az állapot rendszeren 6—8 órai forralás után következik be. Most minden részletet külön-külön vákuumban teljesen szárazra párologtatunk be. Sok leucint tartalmazó proteinek esetében a második és harmadik részlet elbontása után, kihüléskor kiválik a leucin egy része. Ezt mindjárt leszűrjük s az anyalúgot szárazra párologtatjuk.

A három lemért részletet most a prolin kioldása céljából többször egymásután alkohollal főzzük ki. Az alkoholos oldatok kihülésakor rendszeren a prolinnal együtt feloldódott egyéb aminosavak válnak ki, melyeket

szűrés útján eltávolítunk, s az eredeti részlettel egyesítünk. Az alkoholos prolinoldatokat most egyesítjük, vákuumban szárazra párologtatjuk, a maradékot ismét forró alkohollal oldjuk ki, mi közben a maradék egy része oldatlannak bizonyul, s az oldat lehülésekor ismét forró alkoholban oldhatatlan idegen aminosavak válnak ki. A bepárologtatást és forró alkohollal való kioldást addig ismételjük, a míg a bepárologtatás után kapott maradék forró alkoholban tökéletesen feloldódik. Csak ennek az oldatnak bepárologtatott maradékát tekinthetjük dl- és l-prolin keverékének. Rézsóik oldhatósága alapján választhatók el. E célból a tömeget vízben oldjuk és frissen lecsapott cuprioxiddal körülbelül $\frac{3}{4}$ óra hosszat forraljuk, s a sötétkéék szüredéket szárazra párologtatjuk be. A maradékot most olyanformán kezeljük forró alkohollal, mint azt előbb a szabad aminosavaknál leírtam. E közben a dl-prolin rézsója oldhatatlan maradékot alkot, egy része pedig az alkoholos oldatokból állás után mindig kiválik. A kioldást és az alkoholos oldatok bepárologtatását addig ismételjük, a míg az alkoholos oldat maradéka forró alkoholban tökéletesen oldható. Ha ezt elértük, az alkoholos oldatot kis térfogatra sűrítjük be és jég-szekrényben állani hagyjuk, miközben az l-prolin rézsója lassan kikristályosodik. Vizes oldatából hidrogénsulfiddal eltávolítjuk a rezet, midőn a szabad l-prolin oldatát kapjuk, melynek bepárologtatása után a maradékot alkoholban oldva, éterrel kristályos l-prolint kapunk, melynek tisztaságát a forgatótehetség mértékével és jellemző származékainak előállításával ellenőrizhetjük. Az alkoholban oldhatatlan dl-prolin rézsóját forró vízből kristályosítjuk át és 2 molekula kristályvizének, továbbá réztartalmának meghatározásával azonosítjuk.

D. D. van Slyke¹ a prolin meghatározására az aminosavéterek desztillálása után az étereknek salétromossavval való elbontását ajánlja. E célból meghatározzuk az éterekben az összes és az aminnitrogént. Valamennyi aminosavnak aminnitrogénje, mely a prolinaethyléterrel együtt desztillál, salétromossav hatására felszabadul, kivéve a prolin nitrogénjét. A két nitrogénmeghatározás különbségéből tehát a jelenlevő prolin mennyisége megállapítható.

A három ledesztillált részlet alkoholban oldhatatlan maradékát külön-külön szakgatott kristályosításnak vetjük alá. Mindegyiket vízben oldjuk, ha szükséges, csontszénnel színtelenítjük, majd legcélyszerűbben platinacsészében, vízfürdőben addig sűrítjük be, míg kristályok kezdenek kiválni. Ekkor az oldat lehülésekor kivált kristálytömeget leszűrjük és anyalúgját ismét addig sűrítjük be, a míg a kristálykiválás ismét megindul. Célyszerű minél nagyobb számú kristályrészleteket készíteni. A részleteket előbb megszáritjuk, majd megmérjük és olvadáspontjukat,

¹ D. D. van Slyke: Berichte d. Deutschen chemischen Gesellschaft 43, 3170—3181 (1910).

illetőleg bomláspontjukat meghatározzuk. Tekintve, hogy bomló anyagokról van szó, a hőmérséklet emelését lehetőleg gyorsan kell végezni, úgy hogy a kénsav- vagy paraffinfürdőnek az olvadáspont hőmérsékletéig emelése 3 percnél tovább ne tartson. Az olvadás-, illetőleg bomláspontok már is tájékoztatnak a kristályosított részletek minőségéről. A glükocholl 240° körül, az alanin és leucin 297° körül, a valin 315° körül olvad. Felvilágosítást nyújt sokszor a részletek íze is. A glükocholl és az alanin édesek, a d-valin csak nagyon gyengén édes és kesernyész utóíze van, míg az l-leucin kesernyész ízű. A legelőször kiváló kristályrészlet sokszor tiszta l-leucinből áll. Forró vízből átkristályosítás után teljesen tiszta anyagot találunk. Jellemző a nehezen oldható és halványkék, majdnem színtelen részója.

A következő kristályrészlet rendszeren l-leucin, d-isoleucin és d-valin keveréke. Ezeknek elválasztása egymástól meglehetősen körülményes. Legcélyszerűbb a keveréket részóvá alakítani s a részókeveréket methylalkohollal kifőzni, mikor az l-leucin részója oldhatatlan maradék, míg a másik két aminosav részója a methylalkoholban oldódik és belőle d-isoleucin és d-valin keveréke állítható elő. Ezeket egymástól következőképen választhatjuk el. A keveréket barytvízzel 180° -ra hevítjük autoklávban, miközben a d-valin teljesen átalakul dl-valinná, a d-isoleucinból pedig részben d-alloisoleucin keletkezik. Az összes baryum eltávolítása után maradék keveréket ismét a részójává alakítjuk s a részókeveréket forró alkohollal oldjuk ki, miközben a dl-valin részója oldhatatlanul marad vissza.¹ Egy másik módszer a 3 aminosav elválasztására az ólomsóknak oldhatóságán alapszik.² Ilyenkor meg kell előbb határoznunk a keverék elemi összetételét, melynek alapján a valin és a leucin, illetve isoleucin viszonylagos mennyisége kiszámítható. Most a jelenlevő leucinra számított mennyiségű 25%-os ólomacetatoldatot öntünk az aminosavkeverék vizes oldatába, mire a leucin és isoleucin kicsapódnak. Egymástól a részók segítségével választhatók el. Az anyalúgban marad a valin ólomsója. A b e r h a l d e n a módszert szintén kipróbálta, de azt találta, hogy a valin és leucin elválasztása nem tökéletes. Ha a három aminosav mellé még d-alanin is került, az elválasztás nagy nehézségekbe ütközik.

A valinnak elválasztása az alanintól könnyebben sikerül, dacára annak, hogy a két aminosav szívesen kristályosodik ki közösen az oldatból. Gondos részletes kristályosítás azonban rendszeren célhoz vezet. A legkönnyebben oldható részletekben találjuk az alanint és a glükochollt. Elválasztásuk nem nehéz, mert a glükocholl alkoholban nehezen oldható

¹ F. Ehrlich és A. Wendel: Biochem. Zeitschr. 8, 399—437 (1908).

² P. A. Levene és D. D. van Slyke: Journal of. biol. Chemistry. 6, 391—418 (1909).

aethyléterchlorhydrátja révén jól leválasztható. E célból az aminosavkeverék finom porát abszolút alkohollal leöntjük és száraz sósavgázt bocsátunk bele az oldat telítéséig. Lehűlés után az oldatot még egyszer telítjük sósavgázzal, majd glükokollaethyléterchlorhydráttal beoltva jól elzárt edényben hosszabb ideig hagyjuk a keveréket jégszekrényben állani. E közben a glükokollaethyléterchlorhydrát leválik. Az anyalúgban marad az alaninaethyléterchlorhydrát, melyből az étert szabaddá téve és elszappanosítva, gyakran tiszta d-alanin jut birtokunkba.

A glükochollnak elválasztása az alanintól a pikrátjaik oldhatósága révén is sikerül.¹ E célból a kristályrészletet kevés forró vízben oldjuk és súlyával egyenlő mennyiségű pikrinsavnak forró alkoholos oldatával elegyítjük. Kihűléskor a 190°-on olvadó glükochollpikrát válik ki, míg az alaninpikrát oldatban marad.

Ha az aminosavéterek szakgatott lepárlását gondosan végeztük, az említett aminosavakon kívül a három első részletben egyéb aminosavat nem találunk. A negyedik részlet teljesen más összetételű, mert ebben a phenylalanin, a glutaminsav, az aszparaginsav és a serin aethylétere van. Legelőször a phenylalaninétert oldjuk ki a keverékből éterrel, melyben a többi aminosavaethyléter oldhatatlan. Ezt úgy végezzük, hogy aminosavaethyléterkeveréket 5 térfogat vízzel rázzuk össze, miközben a phenylalaninaethyléter finom cseppek alakjában kiválik. Ha választólcsérben egyenlő térfogatú vízzel rázzuk a folyadékot, a vizes réteg megtisztul, mert a zavarodást előidéző cseppek eltűnnek. Az éteres réteget most még néhányszor vízzel oldjuk ki, miáltal a többi aminosavétert eltávolítjuk s csak a phenylalaniné marad az éterben oldva. Az éter ledesztillálása után a maradékot tömény sósavval bepárologatjuk, miközben a phenylalaninaethyléter hidrolizist szenved és phenylalaninchlorhydrát marad vissza, melyet könnyű sósavból átkristályosítással megtisztítani. Nátriumacetáttal vagy ammoniákkal könnyen előállíthatjuk a szabad phenylalanint.

Az éterben oldhatatlan aminosavaethylétereket kétszeres mennyiségű átkristályosított báryumhydroxiddal szappanosítjuk el 100°-on. A művelet 2 óra hosszat tartó melegítés után be van fejezve. Az oldatot több napig hagyjuk állni, miközben aszparaginsavas bárjum válik ki. A kristályokat leszűrjük és 25%-os kénsavval leöntve felfőzés által szabaddá tesszük az aszparaginsavat, majd a szüredékben báryumhydroxiddal a kénsavat pontosan leválasztjuk, mikor az oldat bepárologatása után tiszta aszparaginsav marad vissza.

Az aszparaginsavas báryum szüredékéből a báryumot kénsavval pontosan kicsapjuk s az oldatot vákuumban szárazra párologatjuk.

¹ P. A. Levene: Journal of biolog. Chemistry. I, 413 (1906).

A maradékot vízben oldjuk, ha kell, csontszénnel szintelenítjük és az oldatot sósavgázzal telítjük. Nemsokára megkezdődik a glutaminsav-chlorhydrát kikristályosodása. A nyers terméket könnyen megtisztíthatjuk, ha tömény sósavból kristályosítjuk át.

A glutaminsavchlorhydrát anyalúgában aszparaginsav és serin van. Az oldatot vákuumban többször szárazra párologtatjuk, a maradékot vízben oldjuk és sárga ólomoxiddal addig forraljuk, míg az oldatnak lehűtött és megszárt próbája chlorreakciót már nem mutat. A megszárt oldatból hidrogénszulfiddal kicsapjuk az ólmot és ismételt szűrés után a folyadékot besűrítjük. Nemsokára aszparaginsav kezd kikristályosodni. Az anyalúgban a serin marad, még pedig dl-alakjában. Elkülönítése a serin könnyű oldhatósága és az utolsó anyalúgban felhalmozott szennyező anyagok jelenléte miatt nem mennyiségileg pontos. Ha az anyalúg még savanyú kémhatású volna, pontosan közömbösítjük normális nátriumhydroxiddal, majd besűrítjük. A serinnek nagy része nemsokára kikristályosodik. Ha nem sikerülne az oxyaminosavat közvetlenül elválasztani, meg kell kísérelni a metyléterchlorhydrátját, vagy β -naphtalin-sulfoszármazékát előállítani.

Az aminosavaethyléterek desztillálása után talált sötétbarnaszínű maradékot sem szabad tüzetes vizsgálat nélkül elvetni. Sokszor rövidebb-hosszabb állás után az aminosavanhydridek kristályainak kiválását észlelhetjük benne. Eczetéterrel kifőzve a tömeget, a kristályok részben feloldódnak. Így állíthatjuk elő a leucinimidet, míg az oldatlan maradék, pl. a selyem hidrolizisének esetében is, dl- és l-serin keverékéből áll. Ezeken kívül lehet a maradékban változó mennyiségű tyrosinaethyléter és barytvízzel hosszabb ideig tartó főzés után, gyakran nagyobb mennyiségű glutaminsavat is előállíthatunk belőle. Legcélszerűbben úgy járunk el, hogy a forró eczetéterrel történt kioldás után a maradékot kétszeres súlyával egyenlő mennyiségű báryumhydroxiddal víz jelenlétében 16 óra hosszat visszacseppegő hűtővel felszerelt lombikban főzzük, majd az oldatból pontosan kicsapjuk a báryumot és a szüredéket besűrítése után sósavgázzal telítjük s így kapjuk meg a glutaminsavchlorhydrátot.

Miként látjuk, a számos művelet, valamint az elválasztások nem eléggé éles volta nem engedi meg, hogy a sok aminosavat mennyiségileg meghatározzuk. E módszernek azonban már az is nagy haszna, hogy segítségével az aminosavakat tisztán állíthatjuk elő, minélfogva felismerésük biztos, továbbá viszonylagos mennyiségükre is következtethetünk. Abderhalden és tanítványai legújabb időben Kjeldal-féle nitrogénmeghatározások segítségével állandóan ellenőrzik az egyes műveleteknél történt anyagvesztéseket. A vizsgálat végén megállapítható, hol volt tökéletlen az elválasztás, mennyi aminosav került el a figyelmet és mennyi maradt a maradékban stb.

Az aminosavaethyléterek felszabadítása alkalifémhydroxid és kálium-karbonát segítségével nem mennyiségi eljárás, miért is, ha a talált szám-adatoknak értéket akarunk tulajdonítani, czélszerű az egész műveletet, kezdve az éterifikálástól, megismételni. E végett a rendkívül sok kálium-karbonátot tartalmazó tömeget vízben oldjuk, kis részletekben sósavval elegyítjük, végül sósavgázzal telítjük. A kiváló káliumchloridról leszűrt oldatot besűrítjük, ismét sósavval telítjük s a kikristályosodott sókat mindig eltávolítjuk, addig, a míg szerves anyagok nem mutatkoznak benne. Végül az anyalúgot lehetőleg teljesen bepárologatjuk, azután alkohollal és sósavgázzal éterré változtatjuk, a szervesetlen sókat szűrővel eltávolítjuk s az oldattal úgy járunk el, mint azt a legelső aminosav-éterchlorhydrát keletkezésénél leírtam. Ezekből ugyanígy szabadabbá tesszük az étereket, azután desztilláljuk és a savakat elválasztjuk.

Az oxyprolin elkülönítése.

Az aminosavaethyléterek felszabadítása után talált maradékban van a hexonbázisokkal stb.-vel együtt az oxyprolin. A szervesetlen sókat eltávolítjuk, az éterré változtatást megismételvén, az oldatot bepárologatjuk és sósavtartalmú alkohollal kilúgozzuk, miközben a sók visszamaradnak.

Az alkoholos oldatokat lehetőleg erősen bepárologatjuk és a vízzel hígított tömegből a sósavat teljesen eltávolítjuk. E végett az oldatot ezüstsulfáttal rázzuk, a míg a folyadék próbája chlorreakciót nem mutat s a szüredékből a feloldott ezüstöt híg sósavval, melyet cseppenként alkalmazunk, pontosan kicsapjuk, végül pedig ismételt szűrés után báryumhydroxiddal a kénsavat távolítjuk el. A megtisztított oldatot most a diaminosavak leválasztása céljából phosphorwolfrámsavval csapjuk ki. A csapadék anyalúgját megszabadítjuk báryumhydroxiddal a phosphorwolfrámsavtól, a szüredékben lévő báryumhydroxidot pedig pontosan kénsavval távolítjuk el, végül az oldatot erősen besűrítjük és kénsav fölött szárítóban hagyjuk állani. Hosszabb állás után kristályokban válik ki az oxyprolin.¹ Leuchs és Felser² a sósavat úgy távolították el, hogy az oldatot ólomoxyddal főzték, miáltal egyúttal az oldat nagymennyiségű szennyezéstől is megtisztult. Az oldatba jutott ólmot kénsavval csapják ki, az utolsó nyomokat pedig a phosphorwolfrámsavval távolítják el. Az utolsó anyalúg tisztítására nagyon czélszerűnek találták a methylalkoholt, mely a sok szennyező anyagot oldatban tartja, míg az oxyprolin kikristályosodik. P. A. Levene és W. A. Beatty³ az amino-

¹ E. Fischer: Berichte, 35, 2660 (1902).

² H. Leuchs és H. Felser: Berichte, 41, 1726 (1908).

³ P. A. Levene és W. A. Beatty: Zeitschr. f. physiolog. Chemie, 49, 252—261 (1906).

savkeveréket phosphorwolfrámsavval és pikrinsavval tisztítják a vizes alkoholban oldható aminosavrézsókat használják fel az oxyprolin elkülönítésére.

A tyrosin elkülönítése és meghatározása.

A tyrosin az anyalúgokból csekély oldhatósága miatt legtöbbször kiválik s forró vízből átkristályosítással rendszerint könnyen tisztítható. Jellemző reakciói felismerését is nagyon könnyűvé teszik. Sósavas hidrolízis után is gyakran teljesen leválaszthatjuk, ha a sósavat bepárologatás által eltávolítjuk és az oldatot nátriumhydroxiddal telítjük.

A cystin elkülönítése.

A cystin rendesen tyrosinnal együtt válik ki gyengén savanyú oldatokból. Savas hidrolízis után nátriumhydroxiddal annyira telítjük az oldatot, hogy gyengén savanyú kémhatású legyen. Hosszabb állás közben a cystin és a tyrosin teljesen kiválik. A két aminosav keverékét leszűrjük és forró 10%-os ammoniában oldjuk, majd az oldatot megszűrjük és eczetsavval gyengén lúgosítjuk vagy közömbösítjük. Előbb a tyrosin válik ki, melynek anyalúgját eczetsavval túltelítjük, mire a cystin kiválása is megkezdődik. Az előállított cystinnek a Millon-féle próbát mutatnia nem szabad; ha mutatja, az elválasztást meg kell ismételni.

A tryptophan elkülönítése.

A brómreakcióval meggyőződünk előzőleg a tryptophan jelenlétéről és összehasonlító próbákkal megállapítjuk azt az időpontot, mikor a brómreakció legerősebben mutatkozik, ilyenkor kapjuk legnagyobb mennyiségét a tryptophannak. Az enzimés hidrolízis után keletkezett folyadékot 80°-ra melegítjük, majd a szüredékbe annyi kénsavat öntünk, hogy 5 térfogatszázalékot tartalmazzon és 10%-os mercuriszulfáttal elegyítjük, melyet 5%-os kénsavban oldottunk fel. A keletkezett terjedelmes csapadékot leszűrjük, 5%-os kénsavval mossuk; azután vízben szétosztjuk és melegítés közben hydrogénszulfiddal elbontjuk. A szüredékből a hydrogénszulfidot a széndioxiddal kiűzzük, a kicsapást benne ugyanazon körülmények között, mint azt előbb végeztük, megismételjük, azonban előbb csak éppen annyi mercuriszulfátoldatot elegyítünk az oldattal, míg a csapadék összefüggő tömeggé alakult. Ezt fél órai állás után leszűrjük. Így azt érjük el, hogy a könnyebben kiváló cystint és tisztátlanságokat elkülöníthetjük az anyalúgtól, mely most már mercuriszulfátoldat fölöslegével elegyítve a tryptophancsapadékot adja. Ezt leszűrve, addig mossuk 5%-os kénsavval, míg a mosóvíz még Millon-féle reakciót ad. A csapadékot hydrogénszulfiddal elbontjuk és a szüredékből a kénsavat báriumhydroxiddal leválasztjuk, majd a

megszűrt oldatba kevés alkoholt öntve, vákuumban 40°-on besűrítjük. Nemsokára megkezdődik a tryptophan leválása. 50%-os alkoholból átkristályosítva, tiszta terméket kapunk. Gyakran s talán mindig a tryptophan mellett $C_{11}H_{12}N_2O_3$ összetételű és egyelőre oxytryptophannak nevezett termék is van, mely nehezebben oldható, mint a tryptophan s tőle e tulajdonsága alapján könnyen el is választható.

A histidin, lysin és argininnak egymástól való elválasztása és meghatározása.¹

A három aminosav elkülönítése és meghatározása azért fontos, mert itt valóban mennyiségi eljárásról, nem pedig megközelítő becslésről van szó, melylyel a többi aminosavnál meg kell elégednünk. Enzimes hidrolízis esetében ugyancsak jó termeléseket érünk el, de savas hidrolízisnél a módszer kifogás alá nem eshetik. A módszernek elve, mely eredetileg Kossel és Kutscher-től származik, az, hogy a három hexonbázist a vizsgálandó folyadékból közösen kicsapjuk, majd a báryumhydroxiddal visszkapott aminosavak közül ezüstsóik alakjában a histidint és az arginint kicsapjuk, míg a lysin a szüredékben marad. A histidint és arginint ezüstsóiknak ama tulajdonsága alapján választjuk el, hogy az első aminosavezüstsó báryumkarbonát jelenlétében kicsapódik, míg az arginin csak határozottan lúgos oldatban, tehát báryumhydroxid jelenlétében válik ki.

Enzimes hidrolízis esetében (pl. Kutscher-Lohmann: Zeitschr. f. physiol. Chem. 39, 162 (1903) a phosphorwolfrámsavval való kicsapást el lehet kerülni. Ha a hidrolízist 25%-os kénsavval végeztük, 14 óra hosszat tartó forralás útján, akkor sem szükséges feltétlenül phosphorwolfrámsavval a kicsapás, mert a huminanyagoknak eltávolítása báryumhydroxiddal végezhető és az ammonia ledesztillálása után a kénsavval megsavanyított oldatból közvetlenül leválasztjuk a histidint és az arginint.

Ha a hexonbázisokat phosphorwolfrámsav segítségével különítettük el az oldatból, a csapadékot 300 légköri nyomás alatt sajtoljuk, elporítjuk, turbinával végzett gyors keveréssel a meleg báryumhydroxid-oldatban lebegő csapadékot elbontjuk s a szüredékben a báryumot kis fölöslegű kénsavval kicsapjuk.

A histidin és arginin kicsapása ezüstsóik alakjában.

A hideg kénsavas oldatot, melynek nitrogéntartalmát Kjehldal módszere szerint határozzuk meg, apró részletekben, erős rázás közben,

¹ A. Kossel u. Fr. Kutscher: Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 165 (1900); A. Kossel u. H. Pringle, Z. 49, 318 (1906); H. Steudel, Z. 37, 219 (1903); 44, 157 (1905); F. Weiss, Z. 52, 108 (1907).

forró ezüstsulfátoldattal elegyítjük. Ha nem mennyiségi meghatározásról van szó, ezüstsulfát helyett nitrátot használunk. Azt, hogy az ezüst-oldat adagolásával mikor kell felhagynunk, úgy tudjuk meg, hogy a folyadék egy cseppjét fekete papirosra tett óráüvegen egy csepp barytvízzel elegyítjük. A míg a cseppek érintkezésekor fehér, vagy halvány-sárga csapadék áll elő, az ezüstoldat mennyisége nem elegendő. Tovább adagoljuk tehát az ezüstoldatot addig, a míg a barytvíz előidézte csapadék sárgásbarna nem lesz. Most az oldatot lehűtjük és rendkívül finomra eldörzsölt báriumhydroxyd porát szórjuk az oldatba. A báriumhydroxid mennyisége annyi legyen, hogy az oldat telítése után még egy része a lombik fenekén oldatlanul maradjon. A leülepedett csapadékot porcellánszűrőn leszűrjük, majd porcelláncsészében tiszta tengeri homokkal és barytvízzel teljesen egyenletes tömeggé dörzsöljük, azután ismét leszűrjük és barytvízzel jól kimossuk, végül annyi kénsavat tartalmazó vízbe keverjük, hogy az oldat savanyú kémhatást mutasson. Az ezüstsó szüredéke a lysin meghatározására szolgál.

A histidin meghatározása.

A kénsavban finomul szétosztott ezüstsókat folytonosan keverve turbinával hydrogénsulfiddal telítjük, a csapadékot leszűrjük és forró vízzel addig főzzük ki, míg a szüredékben phosphorwolfrámsav csapadékot nem idéz elő. A mosóvizet a szüredékkel együtt besűrítjük, pontosan egy literre feltöltjük és az oldat 20 cm³-ében meghatározzuk Kjehldal szerint a nitrogént. Erre az oldatot pontosan telítjük barytvízzel, báriumnitrátoldatot öntünk hozzá addig, a míg csapadék képződését észleljük, majd a csapadékot leszűrjük. A szüredéket 300 cm³-re párologtatjuk be, majd salétromsavval megsavanyítjuk és tömény ezüsnitrátoldatából addig csepegtetünk hozzá, a míg a folyadék egy cseppje barytvízzel sárgásbarna csapadékot ad.

Ekkor barytvízzel ismét gyengén savanyúvá vagy közömbössé tesszük a folyadékot és vízzel iszapolt báriumcarbonáttal keverjük el, majd előbb vízfürdőn melegítjük a tömeget, végül egyszer felforraljuk, azután pedig kihűtjük. A histidin-ezüstsócsapadékot leszűrjük és olyan vízzel mossuk, melynek 100 cm³-ében 5—6 csepp 5%-os barytvíz van oldva. A szüredéket az arginin meghatározására félretesszük. A csapadékot kénsavas vízben hydrogénsulfiddal elbontjuk, a szüredéket 250 cm³-re kiegészítjük, ebből 25—50 cm.-t ismét nitrogénmeghatározásra használunk és belőle a histidin várható mennyiségét kiszámítjuk. Az oldatból most barytvízzel a kénsavat kicsapjuk s a szüredéket körülbelül 10 cm³-re sűrítjük be. Ehhez öntjük az előbbi nitrogénmeghatározás alapján számított mennyiségű kevés forró alkoholban oldott pikrolonsavat, gondoskodva arról, hogy a kémlőszer csekély fölösleg-

ben legyen. Három napi állás után a pikrolonátot leszűrjük, vízzel ki-mossuk, 100°-on megszáritjuk és mérjük, majd a talált eredményből a histidin-monopikrolonát összetétele alapján számítjuk ki a jelenlevő histidin mennyiségét.

Az arginin meghatározása.

A histidin ezüstsójának szüredékét báryumhydroxid porával telítjük s az argininezüstcsapadékot leszűrjük, homokkal és barytvízzel eldörzsöl-jük, ismét leszűrjük és barytvízzel kimossuk. A csapadékot kénsavas vízben hydrogénszulfiddal elbontjuk, a szüredéket körülbelül 500 cm³-re sűrítjük, nitrogéntartalmát megállapítjuk, majd éppen úgy, mint előbb a histidinnél leirtuk, eltávolítjuk a kénsavat, az oldatot besűrítjük, pikrolon-savval kicsapjuk és a talált pikrolonátból az arginin mennyiségét ki-számítjuk.

A lysin meghatározása.

A histidin és arginin közösen leválasztott ezüstsóinak szüredéké-ből a báryumot kénsavval eltávolítván, hydrogénszulfiddal a feloldott ezüstöt eltávolítjuk, majd a szüredéket 500 cm³-re hígítjuk és benne a nitrogéntartalmat megállapítjuk. Ez által ellenőrizhetjük, hogy nem tör-tént-e a műveletek alkalmával veszteség az eredeti nitrogéntartalomhoz képest. Most az oldathoz annyi kénsavat öntünk, hogy benne körülbelül 4 térfogat-százalék legyen és annyi phosphorwolfrámsavoldatot öntünk hozzá, hogy az oldat megszűrve, phosphorwolfrámsavval elegyítve, 10 másodperczig átlátszó maradjon. A csapadékot 24 órai állás után leszűrjük, 4%-os kénsavval eldörzsöljük, ismét leszűrjük és 4%-os kénsavval jól kimossuk. Ha az oldatban meghatározzuk a nitrogént, megtudjuk, mennyi volt az eredeti szüredékben foglalt phosphorwolfrámsavval ki-csapható lysin. A csapadékot most barytvízzel elbontjuk, a szüredéket bepárologatjuk és pikrinsav alkoholos oldatával kicsapjuk. Az oldatba addig öntünk pikrinsavoldatot, amíg csapadék keletkezik. 24 órai állás után a lysinpikrátot leszűrjük, kevés alkohollal mossuk, forró vízben oldjuk és kis térfogatra párologatjuk be. A kihüléskor lysinpikrátkristá-lyokat 100°-on szárítva, mérjük. Az anyalúgokból kicsapván az alkoholt, 4 térfogat-százaléknyi kénsavval elegyítjük, éterral a pikrinsavat eltávolít-juk s most az oldatot ismét elegyítjük phosphorwolfrámsavval; a talált csapadékot úgy dolgozzuk fel, mint azt előbb leirtuk.

A histidin, arginin és lysin elválasztásánál alkalmazott módszernél különösen ha a hidrolizist enzimekkel végeztük, a különböző részletekben egyéb bázisok is lehetnek jelen, miért is az előállított termékek utolsó tisztítását a legnagyobb gonddal végezzük s a készítmények tisztaságát származékaik készítése útján lehetőleg ellenőrizzük. A histidinrészlet

tartalmazhat, különösen abban az esetben, ha nem tiszta proteint alkalmaztunk a hidrolizisnél, thymint, uracilt és cytosint, az argininfrakció: guanidint. Utóbbi pikrátja révén az arginin pikrolonsavas származékának anyalúgából választható le. A lysinrészletben esetleg ornithin lehet, különösen ha az argináz enzimmel van dolgunk. Ugyancsak itt cholin-nal is találkozhatunk, mely a lecithin bomlásából származik. Nem ritkán egyéb phosphorwolfrámsavval kicsapható aminosav is jelen lehet a meghatározandó termékek között.

A proteinek általános jellemzése.

A proteinek legnagyobb része közömbös anyag, mely az elektromos áramot alig vezeti; savakkal és lúgokkal azonban olyan sokat létesítenek, melyek vizes oldatban jól disszociálnak. E szerint a proteinek elektro-chemiai jelleme amphoter. Találkozunk savanyú vagy bázisos proteinekkel, melyek azonban szintén amphoter jelleműek. A proteinek sói vízben és hígított alkoholban rendszerint jobban oldódnak, mint a proteinek maguk. A változatlan proteineknek leírt anyagok sok esetben tulajdonképpen azoknak sói.

Száraz állapotban a proteinek színtelen vagy világos színű, laza, nem nedvesedő porok. Néhány közülök kristályosan is ismeretes, legnagyobb részük azonban alakatlan. Egy részük vízben, mások híg sóoldatban, ismét mások híg savban vagy lúgban oldódnak, alkoholban, továbbá a többi szerves oldószerben valamennyi oldhatatlan. Erősebb lúgokban vagy savakban bomlás közben oldódnak. Elégetésükkor égett szőrszagot árasztanak és nehezen elégethető szenet hagynak vissza. Rendszen hamút is tartalmaznak, mely a kén oxidációja folytán keletkezett kénsav mellett többször calciumot, phosphátokat és egyéb szervetlen alkotórészeket tartalmaz.

A proteinek, úgyszólván átmeneti tagok a kristalloidok és kolloidok között. Egy részük típusos kolloid, de jól kifejlett kristályokat létesít. Oldataikban ultramikroszkóppal kivehetők a lebegő részecskék. Kolloidális természetük mellett bizonyít, hogy ozmózis nyomásuk és diffúzióképeségük rendkívül csekély. A proteinoldatokból, helyesebben szuszpenziókból, rázásakor kicsapódnak a proteinek, ugyanez történik pl. a fibrinogénnel és a globulinnal, ha szuszpenzióikból a víz elpárolog, vagy ha azokat porózus anyagokkal hozzuk érintkezésbe. Ez az oka annak, hogy szuszpendált proteineket sokszor nem lehet agyagszűrőn átszűrni. Kolloidális természetükkel együtt jár, hogy más, különben nehezen oldható anyagokat oldatban tartanak és kicsapódva, magukba zárnak. A proteinek szuszpenziói nagy viszkozitásukkal tűnnek ki, a mint hidrolizis következtében a protein kisebb molekulákra bomlik, a folyadék viszkozitása is kisebbé válik.

A változatlan proteinek jellemző sajátása, hogy szuszpenzióik melegítésre vagy egyéb chemiai, illetőleg fizikai beavatkozásra a protein kiválik és maradandóan megtartja oldhatatlanságát. Ezt a jelenséget *megalvadás*-nak (koagulálásnak) vagy *denaturálás*-nak nevezzük. A denaturált proteineknek savakkal létesített sóit *acidalbuminát*-oknak, a lúgokkal képezetteket pedig *alkalialbuminát*-oknak nevezik. Az angol nevezéktan a denaturált proteinek jelölésére a *metaprotein* nevet használja.

A melegítés hatására bekövetkező denaturálás tökéletesen csak akkor áll elő, ha a proteint tartalmazó szuszpenzió gyengén savanyú. Közömbös vagy gyengén lúgos folyadék a protein egy részét mindig oldatban tartja. Hosszú ideig tartó dialízis útján hamualkotórészeitől lehetőleg megfosztott protein savanyú vagy gyengén lúgos, nem alvad meg. Ha azonban a felmelegített folyadékhoz sót elegyítünk, a denaturálás azonnal bekövetkezik. Só hozzáadása nélkül csak közömbös oldatban alvad meg a megtisztított protein. A jelenség okát abban látjuk, hogy sav vagy lúg jelenlétében a protein sói keletkeznek, melyek, ha a folyadékban szervesen só nincs, oldatban maradnak. Ha azonban szervesen sók akár csekély mennyisége is van jelen, ez a proteinek sóit kiválasztja.

Mindezekből következik, hogy dialízis útján tisztított protein denaturálása végett, a folyadékot sav hozzáadása nélkül, míg szervesen sókat tartalmazó proteint csekély mennyiségű sav jelenlétében kell melegíteni. Legcélzszerűbb a folyadék megsavanyítására eczetsavat használni, még pedig olyan mennyiségben, hogy a folyadék kémhatása lakmuszszal szemben éppen gyengén savanyú legyen. Leggyakoribb eset, hogy denaturálás céljából előbb konyhasót, vagy egyéb közömbös sót, azután eczetsav fölöslegét keverjük a folyadékba, s így választjuk le oldhatatlan alakban a proteineket. Sókat, savakat, vagy lúgokat tartalmazó proteines folyadékot denaturálva, a tömeg kémhatása a lúgos felé hajlik, úgy hogy gyengén savanyú oldatok is a főzés után határozottan lúgosakká válnak. Lúgos proteinoldatoknak denaturálása melegítéssel sohasem tökéletes.

A denaturálás a különböző proteineknél különböző hőmérsékleten áll be és változik a proteint kísérő sók és egyéb anyagok szerint. Összehasonlító denaturálási hőmérsékletek meghatározásánál ezeket a körülményeket tekintetbe kell venni.

A denaturálás bekövetkezik melegítésen kívül egyéb okokból is. A különben könnyen oldható globulin és a fibrinogen, ha feloldatlan állapotban rövid ideig állnak, oldhatatlanokká válnak. Ezzel szemben tojásfehérjekristályokat száraz állapotban 150⁰-ra is lehet melegíteni, a nélkül, hogy oldhatóságukat vízben elvesztenék. A denaturálást előidézi továbbá többé-kevésbé gyorsan valamennyi kémszer, mely a proteineket szuszpenzióból kicsapja. A kisózás műveleténél is idővel

denaturált proteinekhez jutunk. Alkohol és aceton sók jelenlétében gyorsan denaturálják a proteineket.

A proteineknek oldataikból leválasztásuk szempontjából nagyon fontos az a jelenség, melyet kisózásnak neveznek. Ez abban nyilvánul, hogy sók hozzáelegyítésére proteinek a folyadékból leválnak. Tisztán tapasztalati úton arra az eredményre jutottak a kutatók, hogy az ammoniumsulfát és a zinkszulfát legalkalmasabbak kisózásra, mert ezek a proteineknek hidrolizises termékei közül még az albumózokat is kiválasztják. A káliumacetát, a nátriumsulfát és magnéziumsulfát az összes változatlan proteineket kicsapják. A calciumchloridnak és calciumnitrátnak az a hátránya, hogy a kiválasztott proteineket egyúttal gyorsan denaturálják is. A nátriumchlorid és a magnéziumsulfát már akkor is leválasztják a proteinek egy részét, ha a folyadék a sóval nincsen telítve. Ezt a tulajdonságot azonban legjobban az ammoniumsulfát és zinkszulfát mutatja, miért is, ha olyan keverékeket dolgozunk fel, melyekben mindenféle kisebb-nagyobb molekulahalmazok közösen fordulnak elő, a két sónak különböző koncentrációjú oldalával részlegesen csaphatjuk ki és választhatjuk el a különböző termékeket. Éppen azért ez a két só a proteinek enzimés hidrolizisének keletkező termékek elválasztásánál fontos szerepet visz. Minden proteinre nézve van egy jellemző ammoniumsulfát-koncentráció, melynél kiválása megkezdődik és egy másik, melynél már a folyadékból az összes protein kiválott. Ez a koncentráció a protein jellemzésénél olyan fontos, akár egy kristályos anyagnak az oldhatósága. Az ammoniumsulfátnak koncentrációit, mely a protein kicsapásának kezdetét és végét jelzi, számokkal jelöljük. Például, ha azt mondjuk, hogy a globulinnak ammoniumsulfáttal való kicsapási határa $2.9-4.6$, ez azt jelenti, hogy a mikor 10 cm^3 folyadékban, mely vizet, globulint és ammoniumsulfátot tartalmaz, 2.9 cm^3 tömény ammoniumsulfátoldat van, akkor kezdődik a globulin kiválása és akkor lesz a kiválás teljes, ha 10 cm^3 folyadékban 4.9 cm^3 tömény ammoniumsulfátoldat van. A proteineknek savakkal létesített sói könnyebben sózhatók ki, mint maguk a proteinek.

A proteineket a szerint, hogy felépítésükben csakis aminosavak, vagy pedig aminosavakon kívül még egyéb atómcsoportok is szerepelnek, egyszerű és összetett proteinekre osztjuk fel.¹ Utóbbiakból a nem aminosavtartalmú ú. n. *protheticus* csoportot kémiai beavatkozások segítségével könnyen le lehet választani.

I. Egyszerű proteinek.

1. *Albuminok.* Denaturálható közömbös proteinek, melyek sótól mentes vízben, továbbá hígított sóoldatban, savakban és lúgokban

¹ A további beosztást a C o h n h e i m-féle munkából vettem át.

feloldódnak. Nehezebben csapódnak ki szuszpenzióikból, mint a globulinok, vagy az összetett proteinek. Ammoniumsulfáttal való kiválási határaik 6·4—9-ig terjednek; ezen tulajdonságaik alapján a mellettük rendszeren jelenlevő globulinoktól elválaszthatók. Savanyú közegben a kiválás hamarabb kezdődik. Kristályos alakban ismeretesek és összetételük megegyezik abban, hogy hidrolízis-termékeik között nincs glükocholl. Ide tartozik a szérumalbumin, a tojásalbumin és a tejalbumin.

2. *Globulinok.* Denaturálható, közömbös proteinek, melyek az albuminokkal ellentétben tiszta vízben és hígított savakban oldhatatlanok, de hígított lúgokban és közömbös sóoldatokban, továbbá erősebb savakban feloldódnak. Sót tartalmazó szuszpenzióikból dialízis alkalmával kiválnak és frissen kicsapva, sóoldatokban ismét feloldódnak. Denaturálásuk sokkal könnyebben megy végbe, mint az albuminoké. Savtermészetűek, ezen alapszik híg lúgokban való oldhatóságuk. Ezzel összhangzásban a lakmuszt megvörösítik és a carbonátokból a széndioxidot kiűzik. Míg híg sóoldatok a globulint oldják, a folyadék magasabb sótartalma leválásukat idézi elő. Ammoniumsulfáttal a kicsapódás hatásai 2·9—4·6 között ingadoznak. Ide tartozik a szérumglobulin, a fibrinogén és fibrin, a tejglobulin, a tojásglobulin, a növényi eredetű globulinok stb.

3. *Alkoholban oldható növényi eredetű proteinek.* Ide tartozik a gliadin, hordein, zein stb.

4. *Hisztionok.* A bennük szereplő amminosavak között nagy mennyiségben vannak jelen a bázisok, különösen az arginin; ennek következtében jellemük is lúgos. Ammonia hatására oldataikból kicsapódnak, a kémszer főlöségében pedig legnagyobb részük ismét feloldódik. Savakban nagyon könnyen oldódnak. A hisztionok nucleinsavakkal vegyülve a szintelen és színes vérsejtek, továbbá halspermatozoidok magvainak főalkotórészét alkotják. Denaturálásuk csak sók jelenlétében, főzéskor következik be; ez a denaturálás nem nevezhető valódinak, mert a csapadék savban oldódik és a folyadék közömbösítése után is oldatban marad; melegítésre ismét leválasztható a hisztion. Salétromsav a hideg oldatban csapadékot idéz elő, mely melegítésre feloldódik, kihüléskor ismét előáll. Az alkaloid kémszerekkel közömbös oldatból is leválaszthatók. Tojásalbumin, kazein és vérsavóoldattal csapadékot létesítenek. Lúgos, közömbös és savanyú oldataikból csekély mennyiségű sók is kiválasztják. A pepszines hidrolízis következtében a nagyon jellemző hisztipeptont létesítik. Lúgos oldatban egy csepp ólomacetatoldattal főzve, csekély mennyiségű ólomszulfidot választanak le; savakkal főzve pedig csekély mennyiségű humin keletkezik.

5. *Protaminok.* A halak spermatozoidjaiban található. Ként nem tartalmaznak; a nitrogén bennük sokkal több, a szén pedig kevesebb, mint a többi proteinekben. A bennük jelenlevő aminosavak között legnagyobb mennyiségben az arginin van képviselve. A monoaminosavak közül a

glükocholl-, a phenylalanin-, az aszparagin- és glutaminsav, továbbá az oxyprolin teljesen hiányzanak; a többi monoaminosav is csekély mennyiségben és szórványosan mutatkozik. Ennek következtében a protaminok valóban a legegyszerűbb és legjobban ismert szerkezetű proteinek. Előállításuk céljából alkalmasak a szulfátjaik tulajdonságai. Erős bázisok, melyeket titrálás útján meg is lehet határozni. Nehezen oldható kettős platinasót, továbbá réz- és ezüstsót alkotnak. Ezüstsulfáttal bárium-hydroxid jelenlétében éppen úgy, mint az arginin, csapadékot idéznek elő. Melegítésre nem denaturálnak; ha azonban oldataik hosszabb ideig állanak, denaturálásra emlékeztető kiválásokat lehet észlelni. Alkaloid kém-szerek lúgos oldatukból is kiválasztják őket. Csekély mennyiségű ammonia jelenlétében protein és elsőrendű albumózoldatokkal csapadékot létesítenek. Trypszin és erepszin hatására protonokká alakulnak át. A pepszin nem idézi elő hidrolizisüket. Ide tartozik a salmin, clupein, scombrin, sturin stb.

6. *Albuminoidok.* A kötőszövetek főalkotórészét alkotják, a sejtek anyagában azonban nincs szerepük. A név nem helyes, mert az albuminoidok nem csak a proteinekhez hasonló anyagok, hanem a proteinek minden tipikus tulajdonságát valóban mutatják is. Ezért Cohnheim albuminoid helyett a „Gerüsteiweiss“ nevet, míg az angol nevezéktani bizottság a *scleroprotein* szót ajánlotta. Mint látjuk, az albuminoidok csoportja anatómiai alapon alakult ki, miből következik, hogy kémiai tekintetben e néven meglehetősen eltérő jellemű és összetételű anyagokat foglalnak össze.

Valamennyi albuminoid vízben és sóoldatban teljesen oldhatatlan, legtöbbször híg savakban és lúgokban is alig oldódnak. Oldásuk csak erőlyes kémiai beavatkozásra történik, miközben azonban az albuminoid kémiaiilag átalakul. Éppen ezért tanulmányozásuk nehéz, mert a változatlan protein tulajdonságait nem észlelhetjük, a mennyiben csak átalakulási termékeik jutnak birtokunkba. Ide tartoznak a kollagen, a keratin, az elasztin, a fibroin és a selyemenyv, a spongin, a conchiolin stb.

II. Összetett proteinek. (Proteidek.)

1. *Phosphoproteidek.* Phosphortartalmú savanyú proteinek.

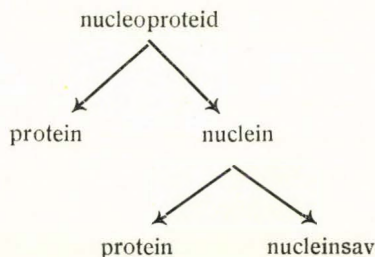
A prostetikus csoportot belőlük 1%-os nátriumhydroxiddal orthophosphorsav alakjában eltávolíthatjuk, mely művelet után a proteidben több phosphort nem találunk. Savakkal a prostetikus csoport leválasztása nem sikerül. A tripszin a jelenlévő phosphorsavnak csak egy részét szabadítja fel, a többit olyan szerves vegyületekké alakítja, melyekből lúgok hatására nem távolítható olyan könnyen el a phosphorsav, mint az eredeti phosphoproteidekből. A pepszin először feloldja a phosphoproteideket és részben mindjárt albumózokká alakítja; ezután következik

a phosphortartalmú csoport eltávolítása, miközben nehezen oldható váladékok is jelennek meg a reakciókeverékben. A pepszinhataás harmadik szakában a termék ismét feloldódik, miközben a proteid többi részének hidrolizise is tovább folyik.

A phosphoproteidek valóságos savak, melyek a lakmuszt is megvörösítik. Vízben oldhatatlanok, lúgokkal és ammoniával létesített sóik ellenben könnyen feloldódnak. Az oldatokból savak újból leválasztják a proteideket. Sóik nem denaturálhatók, ellenben, ha a proteidsót annyira gyengén savanyú közegben, mely a protein kiválasztásához még nem elegendő, melegítjük, sok esetben észrevehető alvadékokat lehet létrehozni.

Eczetsavban többnyire csak a fölös mennyiségű kémszer jelenlétében oldhatók, míg sósavból feloldásukhoz 0.5—1%-os oldat is elegendő. Ez a tulajdonságuk alkalmas arra, hogy más savanyú proteinektől, pl. a mucinoktól elválasszuk őket. A phosphoproteidek csoportjába tartozik a kazein, a vitellin stb.

2. *Nucleoproteidek.* Bonyolult összetételű proteinek, melyeknek szerkezete még nem ismeretes. Annyi bizonyos, hogy a nucleoproteidekben proteineknek ú. n. nucleinsavakkal való vegyületeit kell látnunk. A nucleoproteidek prostétikus csoportja tehát a nucleinsav, melyben viszont adenin, guanin, thymin, cytosin, phosphorsav és hexózcsoport szerepel. A nucleoproteidekből enyhe hidroliziskor a proteinek egy része leválasztható, miközben az ú. n. *nuclein*-okhoz jutunk. Ezek erőleyesebb hidrolizis hatására proteinre és nucleinsavra bomlanak.



Nem szabad azonban figyelmen kívül hagyni, hogy a nuclein közbeeső termékek vizsgálata nagyon nehéz, mert tisztításuk nem sikerül, úgy hogy a felállított minta nem végérvényes.

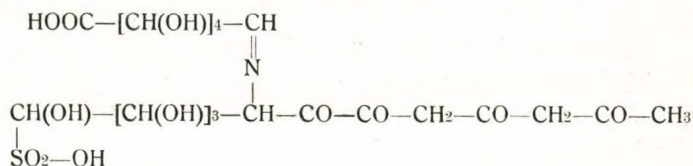
Előfordulnak sejtek alkotóanyagai között, még pedig a sejtmagban és nem ellenőrizhetjük, vajjon előállításuk folyamán nem szenvedtek-e lényeges chemiai átalakulásokat, melyek eredeti sajátságaikat teljesen elváltoztatták? Valamennyien savtermészetűek; vízben és sóoldatokban oldhatók, még jobban lúgokban. Savakkal oldataikból kicsapódnak, a sav fölőslégében újból feloldódnak. Pepszines emésztésük alkalmával a

proteincsoportok albumózokká és peptonokká alakulnak, míg a nuclein oldhatatlanul kiválik. Ez a tulajdonságuk jellemző és ez vezetett felfedezésükhöz is. A tripszin a nucleoproteideket teljesen feloldja. A *nuclein*-ok még határozottabb savak, mint a nucleoproteidek és még savak fölölégének jelenlétében is nehezen oldhatók. A proteinek reakcióit még mutatják. Lúgokkal nucleinsavas alkalifémsókat állíthatunk elő belőlük. A nucleoproteidek oldhatósági viszonyai nagyon hasonlóak az enzimekéhez, minek következtében az enzimkészítményeket nagyon gyakran éppen ezek szennyezik. Nem csoda tehát, hogy felmerült az a kérdés, vajjon az enzimek nem nucleoproteidtermészetű vegyületek-e? A kérdés legtöbb esetben már olyformán tisztázódott, hogy a nucleoproteidok csak szennyezik a tripszin-, pepszin- stb. készítményeket. Még a fibrinenzimre nézve nincs bebizonyítva, hogy a proteidnek jelenléte az enzimhatással nincsen összefüggésben.

3. *Haemoglobin és rokonai.* A haemoglobin, a gerinces állatok vörös vérséjtjeinek főalkotórésze a globin proteinnak vegyülete a *haematin* proszthetikus csoporttal. Utóbbi egy vastartalmú pyrrolszármazék, melynek szerkezete főbb vonásaiban már ismeretes. A haematin közeli rokona az epefestéknek, a bilirubinnak és a mi még érdekesebb, a phylloporphyrinnak, mely a chlorophyllnak vagy növényzöldnek származéka. Lényeges különbség közöttük, hogy, míg a haematin, illetve haematoporphyrin-molekulában a vas szerepel, addig ugyanazt a helyet a phylloporphyrinben a magnézium foglalja el.

4. *Glükoproteidek.* Olyan proteinek, melyeknek bomlástermékei között egy szénhidrát vagy származéka fordul elő. A leggyakrabban előforduló szénhidrát ezek között a glükózamin. Hogy miképpen van a szénhidrátmaradék a proteinmolekulához kapcsolva, arról semmit sem tudunk. Ebbe a csoportba tartoznak a nyálkás anyagok (mucinok) és ide volna sorolandó az *ovalbumin*, a tojásfehérje is, melynek tulajdonságait egyelőre az albuminok csoportjában ismertetjük. Savanyú, phosphortól mentes anyagok, melyek savakkal főzve, redukáló anyagokat létesítenek. Szén- és nitrogéntartalmuk aránylag alacsony, oxigén- és kéntartalmuk ellenben nagy. Az utóbbi tény valószínűleg összefügg azzal, hogy közülük többen chondroitinkénsavat¹ tartalmazznak.

¹ Összetétele valószínűleg $C_{15}H_{27}O_{16}NS$, vagy pedig $C_{18}A_{27}O_{17}NS$. Szerkezete talán:



A proteinek színreakcióit a glükoproteidek is adják. Melegítésre nem alvadnak meg, mely tulajdonságukban a valódi változatlan proteinektől erősen különböznek. Savak, lúgok és alkohol hatására azonban denaturálnak, miközben nyálkás tulajdonságaikat teljesen és maradandóan elvesztik. Ecetsavval oldataikból leválaszthatók és a sav nagy fölöslege jelenlétében is sokkal nehezebben oldhatók, mint a többi protein. Ásványsavak kis mennyisége szintén kicsapja a glükoproteideket, míg nagyobb fölösleg feloldja őket. Alkaliákban, alkalicarbonátokban és ammoniában könnyen létesítenek oldható, részben közömbös, részben savanyú kémhatású sókat. Alkali fölöslegétől könnyen elbomlanak.

A proteinek főcsoportjainak jellemzése után a fontosabb proteinek és sajátságait tárgyalom lehető rövidséggel.

I. Egyszerű proteinek.

1. Albuminok.

A három ismert albuminnak kémiai összetételét és az őket alkotó aminosavaknak megközelítő százalékmennyiségét a mellékelt táblázatban foglaltam össze:

Az albumin neve	C	H	N	S	O	Szerző
	százalékokban					
Kristályos szérum- albumin	52·93	7·05	15·89	1·82	22·31	Abderhalden
Tojásalbumin	52·75	7·10	15·51	1·62	22·90	Osborne és Campbell
Tejalbumin	52·19	7·18	15·77	1·73	23·13	Sebelien

Az albumin neve	Alanin	Valin	Leucin	Aszparagin- sav	Glutamin- sav	Prolin	Oxyprolin	Phenyl- alanin	Szerző
	százalékokban								
Szérumalbumin ...	4·19	—	30·0	4·43	7·7	2·34	1·04	4·24	1
Tojásalbumin ...	2·1	—	6·1	1·5	9·1	2·25	—	4·4	2
Tejalbumin ...	2·5	0·9	19·4	1·0	10·1	4·0	—	2·4	3

¹ Abderhalden, Mörner, Gümbel.

² Abderhalden, Pregl, Osborne, Gilbert, Harris, Mörner, Hausmann, Chapman, Petric.

³ Abderhalden, Pribram.

Az albumin neve	Tyrozín	Tryptophan	Hisztidin	Arginin	Lysin	Serin	Cystin	Ammonia	Szerző
	százalékokban								
Szérumalbumin...	2·1	—	—	—	—	0·56	2·53	0·95	1
Tojásalbumin. ...	1·1	sok	0·66	2·39	3·19	—	0·29	1·5	2
Tejalbumin.	0·85	—	—	—	—	—	—	—	3

A *szérumalbumin* előfordul a gerincesek vérsavójában, a limfában, kóros állapotban a vizeletben és izzadmányokban. Kristályosítása kén-savas oldatban ammoniumsulfát segítségével sikerül. Forгатótehetsége -57 és -64° között ingadozik. 1 g. szérumalbumin 0·2 g. sósavat köt meg. A szérumalbumint a tripszin alig hidrolizálja, sőt a protein oldott állapotában antitripszines hatású. Denaturálása alkalmával ezt a sajátságát elveszti. Oldatából 50%-os alkohol jelenlétében kiválik.

A *tojásalbumin* a tojásfehérjének főalkotórésze. Ammoniumsulfáttal félig telített oldatából kristályokban állítható elő, különösen ha a folyadék savat tartalmaz. Chemiai összetétele, különösen a kén-tartalom miatt, meglehetősen ingadozik. A fent említett aminosavakon kívül körülbelül 10—15% glükózamin is van benne, minek alapján a glükoproteidekhez kellene sorozni. Az ammoniumsulfáttal kiválásának határa 6·2—6·8. Konyhasóval telített oldatból savanyú közegben kicsapódik. Megalvadási hőmérséklete 56° körül van. Ha tojásokat néhány napig 10%-os nátrium-hydroxidoldatban tartunk, a fehérje nem alvad meg melegítéskor, mert a sók mennyisége a proteinben kisebb, a bázis pedig nagyobb lett. Alkohollal a kicsapódás határa alacsonyabb, mint a szérumglobulinnál és 40% alkoholtartalom jelenlétében következik be. Forгатótehetsége $[\alpha]_D = -31^{\circ}$. 1 g. tojásalbumin 0·234 g. sósavat köt meg.

A *tejalbumin* állandó alkotórésze a tejnek, mely a kazeinhez képest azonban csekély mennyiségben van jelen. Kristályos állapotban is ismeretes. Forгатótehetsége $[\alpha]_D = -37^{\circ}$. Sótól mentes oldatban 72° -on alvad meg. Alkoholnak csak 80—90%-nyi jelenlétében csapódik ki.

2. Globulinok.

A fontosabb globulinok chemiai összetételét és aminosavtartalmát, forгатótehetségét és viselkedését ammoniumsulfáttal szemben a mellékelt táblázat mutatja:

¹ Abderhalden, Mörner, Gümbel.

² Abderhalden, Regl, Osborne, Gilbert, Harris, Mörner, Hausmann, Chapmann, Petric.

³ Abderhalden, Pribram.

	Szérumglobulin	Fibrin	Bence-Jones-féle vizeleti protein	Marhahúsból való syntosin	Kendermagból való edesztin	Excelsin Bertholletia excelsából	Globulin pamut- cserjéből	Amandin man- dulából	Phaseolin babból	Legumin borsóból	Legumin Vicia sativából	Glycinin szója- babból
C %o	52.71	—	52.42	—	51.28	52.2	51.71	51.4	52.66	51.74	51.69	52.12
H %o	7.01	—	6.83	—	6.85	6.96	6.86	6.9	6.93	6.90	6.99	6.93
N %o	15.85	—	15.66	—	18.8	18.3	18.64	19.0	15.83	17.78	18.02	17.53
S %o	1.11	—	1.46	—	0.88	1.08	0.62	0.44	0.36	0.42	0.43	0.79
Glükokocholl %o	3.5	3.0	1.7	0.5	3.80	0.6	1.2	0.51	0.55	0.38	0.39	0.97
Alanin %o	—	3.6	4.5	4.0	3.60	2.33	4.5	1.40	1.80	2.08	1.15	—
Valin %o	—	1.0	—	0.9	6.2	1.51	jelen van	0.16	1.04	—	1.36	0.68
Leucin %o	—	15.0	10.6	7.8	14.5	8.7	15.5	4.45	9.65	8.0	8.80	8.45
Asparaginsav %o	—	2.0	4.5	0.5	4.5	3.85	2.9	5.42	5.24	5.30	3.21	3.89
Glutaminsav %o	8.5	10.4	6.0	13.6	14.5	12.94	17.59	23.14	14.54	16.97	18.3	19.46
Prolin %o	2.5	3.6	1.9	3.3	1.7	3.65	2.3	2.44	2.77	3.22	4.04	3.78
Phenylalanin %o	2.7	2.5	1.5	2.5	2.4	3.55	3.9	2.53	3.25	3.75	2.87	3.86
Tyrosin %o	2.5	3.82	1.7	2.2	2.1	3.03	2.3	1.12	2.84	1.55	2.42	1.86
Hisztidin %o	—	jelen van	1.9	2.66	2.19	1.47	3.46	1.87	2.62	1.69	2.94	2.10
Arginin %o	—	3.0	4.6	5.06	14.17	14.29	13.51	12.16	4.87	11.73	11.06	7.69
Lysin %o	—	4.0	6.6	3.26	1.65	1.64	2.06	0.72	4.58	4.98	3.70	3.39
Cystin %o	1.51	1.17	jelen van	jelen van	—	—	—	—	—	—	—	—
Szerin %o	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tryptophan %o	—	jelen van	jelen van	jelen van	—	—	—	—	—	—	—	—
Ammonia %o	1.75	jelen van	1.6	1.47	2.28	1.80	2.33	3.70	2.06	2.05	2.16	2.56
Forgatótehetség $[\alpha]_D$	— 48°	—	—	—	— 41.3°	— 42.9°	—	— 56.4	— 41.5°	—	— 44.1°	—
Ammoniumsulfáttal való kiszás határai	—	—	—	—	3.0—4.2	3.8—5.5	4.6—6.4	3.5—5.3	6.4—8.8	5.5—7.4	5.2—7.3	—

Szérumglobulin. Előfordul a vérsavóban; betegségek alkalmával megjelenik a vizeletben, az izzadmányokban, a limfában. Kristályos állapotban nem ismeretes. Megalvadási hőmérséklete 75° .

Fibrinogén és fibrin. A fibrinogén a vér plazmájában található globulin, mely a fibrinenzim hatására fibrinné alakul át. Ebben áll a vér megalvadása. A fibrinogénjétől megfosztott plazmának neve vérsavó. A fibrinogén előállítását véget a vér megalvadását, vagyis a fibrinogénnek fibrinné való alakulását meg kell akadályoznunk. Ezt elérjük, ha a vérhez 1% nátriumoxalatot, vagy pedig nátriumfluoridot elegyítünk; azután a fibrinogént ammoniumszulfáttal részleges kicsapás útján állítjuk elő. A kicsapott fibrinogén nemsokára valóságos denaturált proteinné alakul, melyet nem szabad összetévesztenünk a fibrinnel. A fibrinogén 56° -ra melegítve, megalvad. Ha akár kicsapás, akár melegítés útján a fibrinogént a vérplazmából eltávolítottuk, mindig oldva marad benne még a *fibringlobulin*, mely ammoniumszulfátos kicsapódási határaiban ($1.7-2.8$) megegyezik a fibrinogénnel, megalvadásának hőmérséklete azonban magasabban: 64° -on van. A *fibrin* fibrinogénből keletkezve, rugalmas kocsonyás anyag. Ilyenkor fizikai állapota a sók hatására leválasztott és a denaturált proteinek között mintegy átmenetet létesít. Friss fibrinogéntartalmú folyadékot, vért vagy plazmát üvegbottal felferve, megakadályozhatjuk a folyadék megalvadását, miközben a fibrin maga üvegszerű, rugalmas anyagként rakódik le az üvegbotra. Az így kiválasztott fibrin savakban, lúgokban oldódik; melegítésre, vagy alkohol, formaldehyd stb. hatására denaturál és úgy viselkedik, mint bármely más denaturált protein. A fibrin leválásakor nagyon könnyen ragad magával idegen anyagokat is, melyektől nehezen tisztítható meg. Duzzadt állapotában a pepszin és a trypsin könnyen hidrolizálják.

Myosin. Az izmokban előforduló, de szorgalmas tanulmányozás dacára sem jól ismert globulin. Megalvadása a halál után bekövetkező merevséget okozza.

Előfordulnak globulinok a tejben, a tojásban, a legkülönbözőbb szövetekben és váladékaikban.

Növényglobulinok. A növények magvaiban fontos tartaléktáplálékok. Az állati eredetű globulinoktól bizonyos tulajdonságaikban eltérnek. Ilyenek: egymástól rendkívül eltérő kisózási határaik; gyenge megalvadási tehetségük. Denaturálásuk után is némely esetben könnyen oldhatók savakban vagy lúgokban. A növényglobulinok nagy része kristályos állapotban ismeretes és minthogy oldataik felmelegíthetők a nélkül, hogy denaturálás következne be és a meleg folyadék több globulint old fel, mint a hideg, valósággal átkristályosíthatók, miért is a legtisztább állapotban ismert proteinek.

Az olajtartalmú magvak globulinjai közül jól kristályosodik a ricinus és lenmag globulinja. Legnagyobb mennyiségben a kendermagból állítható elő az edesztin nevű globulin. Jellemző rájuk, hogy alkotó aminosavaik között az arginin és a glutaminsav nagy mennyiségben van jelen. A többi fontosabb globulint és összetételüket a táblázatban találjuk meg.

3. A gabonaneműek alkoholban oldható proteinjei.

Gliadin. A búza, rozs, árpa stb. endospermiumában fordul elő a *glutenin*¹ társaságában. A két proteint együtt gluténnek nevezik. Jelenlétének köszönhető, hogy a lisztből kenyeret lehet dagasztani és sütni. Vízben és sóoldatokban oldhatatlan, ellenben már sav és lúg csekély mennyiségével is könnyen oldható sókat létesít. Abszolút alkoholban oldhatatlan; 70%-os alkoholban könnyen oldódik. Alkoholal főzve nem denaturál; vizes vagy híg alkoholos szuszpenziója főzésekor oldhatatlanná válik.

Zein. A tengeriben fordul elő, még pedig nagyobb mennyiségben, mint a búzában a gliadin. Abszolút alkoholban oldhatatlan, de már 96%-os alkoholban könnyen oldódik. Vízzel főzve teljesen oldhatatlanná válik és ilyenkor a proteolitikus enzimek sem birkóznak meg vele.

A fontosabb alkoholban oldható proteinek összetétele:

	Gliadin búzából	Gliadin rozsból	Hordein árpából	Zein tengeriből	Avenin zabból
C %	52.72	52.75	54.29	55.23	—
H %	6.86	6.84	6.80	7.26	—
N %	17.66	17.72	17.21	16.13	—
S %	1.03	1.21	0.83	0.60	—
Glükocholl	0	0.13(?)	0	0	1.0
Alanin	2.0	1.33	1.34	9.79	2.5
Valin	0.21	—	1.40	8.98	1.8
Leucin	5.61	6.30	7.0	19.55	15.0
Asparaginsav	0.58	0.25	1.32	1.73	4.0
Glutaminsav	37.33	38.05	43.20	26.17	18.4
Prolin	7.06	9.82	13.73	9.06	5.4
Phenylalanin	2.35	2.70	5.03	6.55	3.2
Tyrosin	1.20	1.19	1.67	3.55	1.5
Hisztidin	0.58	0.39	1.28	0.82	—
Arginin	3.16	2.22	2.16	1.55	—
Lysin	0	0	0	0	—
Ammonia	5.11	5.11	4.87	3.64	—
Forgatóképesség [α] _D	—	—	—	— 28.0°	—

¹ Nincs még tiszta állapotban előállítva, mert eddig egy gumminemű szénhidrát jelenléte megghiúsította a kísérleteket.

A zabban az avenin, a rizsben az oryzenin nevű alkoholban oldható protein fordul elő.

4. Hisztonok.

Előfordulnak a színtelen és vörös vérsejtekben és a halak tejében.

A thymusmirigy színtelen vérsejtjeiben jelenlevő nucleoproteidek hidrolizise útján hisztonhoz jutunk, melynek 100 g.-jában Abderhalden és Róna 0.5 g. glükokollt, 3.5 g. alanint, 11.8 g. leucint, 3.7 g. glutaminsavat, 2.2 g. phenylalanint és 6.3 g. tyrosint talált. Proteolytos enzimek hatására könnyen hidrolizálódik és az erepszin is megbirkózik vele. Más szervekből ugyan nem választották le, de a pepszines hidrolizisnél jelenlevő *hisztopeptonok* a hisztonok jelenlétét bizonyították más szervekben is.

Kossel a liba vörös vérsejtjeiből állított elő hisztont. A lazacz (*salmo salar*) és a scomber éretlen heréjében Miescher és Bang szerint hisztonok vannak, míg az érett herékben már csak protaminokat lehet találni.

Néhány hisztonnak összetételét és diaminosavjaiknak, továbbá ammoniájuknak mennyiségét a következő táblázatban közlöm:

A hiszton származása	C %	H %	N %	S %	Hisztidin %	Arginin %	Lysin %	Ammonia %
Thymusmirigy fehér vérsejtjeiből	52.37	7.7	18.35	0.62	1.21	14.36	7.7	1.66
Liba vörös vérsejtjeiből	—	—	1.18	0.5	—	—	—	—
Gadus morrhua ondójából	—	—	18.65	—	2.34	15.52	8.3	0.74
Lota vulgaris ondójából	—	—	16.48	—	2.85	12.0	3.17	0.66

5. Protaminok.

Előfordulnak a halak ondójában és Kossel vizsgálatai alapján a legjobban ismert proteinek. Elnevezésük a hal neve szerint történik, melyből előállították, pl. salmin, sturin, scombrin stb. Összetételükről a mellékelt táblázat ad felvilágosítást.

A számok az összes nitrogénnek százalékait, a zárójellel körülvelt számok pedig azt fejezik ki, hogy 100 g. anyagban mennyi aminosav van:

A protamin neve	Arginin	Lysin	Hisztidin	Alanin	Serin	Valin	Prolin	Leucin	Tyrozín	Tryptophan
Clupein, heringből (Clupea arengus)...	89	0	0	Kb. 3	Kb. 3	Kb. 6	Kb. 11	0	0	0
Salmin lazacból (Salmo salar) ...	89.2 (87.4)	0	0	0	3.25 (7.8)	1.65 (4.3)	4.3 (11.0)	0	0	0
Scombrin scomberből...	88.9	0	0	6.8	0	0	3.8	0	0	0
Sturin (Accipenser sturio)	63.4 (58.2)	8.4 (12.0)	11.8 (12.9)	jelen van	0	0	0	jelen van	0	0
α Cyprinin pontyból (Cyprinus carpio) ...	8.6 (4.9)	30.3 (28.8)	0	—	—	jelen van	—	—	0	0
β Cyprinin pontyból ...	28.0	3.3	0	—	—	—	—	—	1.5	—

A protaminok az egyedüli proteinek, a melyeknek létesítésére szükséges aminosavak mennyiségét pontosan ismerjük s ennél fogva összetételük is elég biztonsággal van megállapítva. A talált értékek a kémiai összetétel adataival jól egyeznek. Így a salminra nézve melynek összetételét a



képlet fejezi ki, meg lehetett állapítani, hogy a következő molekulákból tevődik össze:

10 molekula arginin
 2 „ serin
 2 „ prolin
 1 „ valin

Enzimes hidrolízis alkalmával protonokká alakulnak, melyek a salmin típusú protaminoknál szimmetriás szerkezetű diarginidek, mint pl. a diarginylserin, diarginylvalin stb. A diarginidek még nem ismert módon egymásba kapcsolva alkotják a protaminmolekulát.

6. Albuminoidok.

Enyv, zselatin, kollagen. A közönséges kötőszövetek fibrilláiban, a porc- és csontszövet alapanyagában mindenütt jelen vannak enyvét létesítő anyagok. Ezekből forró vízzel az enyv kioldódik, s az oldat kihűlésekor kocsonyává sűrűsödik meg, mely melegítésre újra folyóssá válik, kihűlésekor pedig ismét kocsonyásodik. Különböző eredetű készítmények összetételükben is nagy eltéréseket mutatnak, miből következik, hogy az enyv kémiai tekintetben nem egységes anyag. Legtisztább alakja a zselatin, (gelatina) mely átlátszó, rugalmas, üvegszerű s még vizet tartalmazó

anyag. Chemiai összetétele 49·38—51·45% C; 6·8—7·08% H; 17·7—18·1% N és 0·46—0·7% S között ingadozik. Alkotó aminosavait gyakran tanulmányozták és a protein 100 súlyrészében 19·25 g. glükochollt, 3·0 g. alanint, 0·4 g. serint, 6·75 g. leucint, 0·56 g. asparaginsavat, 14·0 g. glutaminsavat, 7·7 g. prolint, 6·4 g. oxyprolint, 0·4 g. phenylalanint, 0·4 g. hisztidint, 9·3 g. arginint, 5—6 g lysint találtak; a hidroliziskor továbbá 0·43 g. ammonia keletkezik.

Trypszin hatására nagyon kevés kristályos hidrolizisterméket szolgáltat; e helyett sok antipepton és albumóz jelentkezik. A pepszines hidrolizis is lassan halad előre és nagy mennyiségű antialbumid keletkezik, míg peptonok csak nagyon későn jelennek meg. Daczára ezen kísérleteknek, a szervezetben könnyen végbemegy a zselatin hydrolizise és gyorsan aminosavakká bomlik.

Hideg vízben, sóoldatokban, savakban és lúgokban oldhatatlan, velük érintkezve azonban felduzzad. Forró vízben nagyon könnyen oldható. Kihűléskor kocsonyát alkot. Ezt a tulajdonságát nagyobb mennyiségű sók jelenlétében elveszíti. Átalakulási termékei már nem alvadnak meg. Ha enyvoldatot egy-két napig 37°-on tartunk, szintén elveszti kocsonyásodásra alkalmas voltát.

Keratin, száruanyag. Az állati szervezet epidermisképződményeinek (haj, toll, köröm, pata, szarv stb.) anyaga. Az albuminoidok között a legnehezebben oldható protein. 10%-os kálmhydroxid is csak melegen oldja és proteolites enzimekkel szemben is nagyon ellentálló. A különböző készítmények chemiai összetétele 49·78—51·16% C; 6·36—7·22% H; 16·43—17·14% N és 4·02—5·00% S között ingadozik. A nagy kéntartalom a sok cystin jelenlétének tudható be. Hajból 13—15% cystint lehet előállítani. A többi aminosav eloszlásáról különféle származású keratinban a következő táblázat nyújt áttekintést.

A keratin származása	Glükocholl	Alanin	Valin	Leucin	Aszparagin- sav	Glutaminsav	Serin	Prolin	Phenylalanin	Tyrosin	Arginin	Lysin	Hisztidin	Cystin
	s z á z a l é k o k b a n													
Marhaszarv	0·34	1·2	5·7	18·3	2·5	14·0	0·7	3·6	3·0	4·58	2·25	—	—	6·8
Koosszarv ...	0·45	1·6	4·5	15·3	2·5	17·2	1·1	3·7	1·9	3·6	2·7	0·2	0·61	7·5
Lószőr... ..	4·7	1·5	0·9	7·1	0·3	3·7	0·6	3·4	—	3·2	4·45	1·12	—	7·98

Elastin. A rugalmas kötőszövetek alapanyaga. Szintén meglehetősen nehezen oldható albuminoid. Hideg 5%-os sósav és forró 1%-os káliumhydroxid hatástalan rá, ellenben a pepszin és a tripszin, bár lassan, albumózokká alakítja. Előállítása úgy történik, hogy a kísérő

enyves és egyéb protein anyagokat hideg savakkal, illetőleg lúgokkal való kioldás útján eltávolítják. A marha nyakinából (ligamentum nuchae) származó készítmények kémiai összetétele 54·08—55·48 % C; 6·99—7·41 % H; 16·19—16·96 % N; 0·18—0·3 % S között ingadozik. A savakkal végzett hidrolízis után 100 g. elasztinból: 25·75 g. glükochollt, 6·58 g. alanint, 1·0 g. valint, 21·38 g. leucint, 0·76 g. glutaminsavat, 1·74 g. prolint, 3·89 g. phenylalanint, 0·34 g. tyrosint, 0·53 g. hisztidint, 1·86 g. arginint, 2·48 g. lysint és 0·05 g. ammoniát lehetett elkülöníteni. Jellemző e szerint magas glükocholl-tartalma. Trypszines emésztéskor tryptophant és a rothadási folyamatoknál indolszármazékokat találni nem lehetett. A pepszines hidrolízis alkalmával nagy mennyiségben keletkezik a *hemielastin*-nak nevezett albumóz, mely alkohollal kicsapódik és jellemző tulajdonsága, hogy vízzel főzve kiválik, s a folyadék kihűlésekor újból eltűnik (hemielastinreakció).

Selyemfibroin és selyemenyv. A selyemhernyó gubójának fonala fibroinnak nevezett albuminoid, melyet enyvszerű anyag borít. A selyemenyv éppúgy, mint az igazi enyv, forró vízzel (különösen túlhevített gőzzel) eltávolítható, s a fibroin visszamarad. A következő táblázatban néhány selyemfajta fibroinjának hidrolízis-eredményét mutatom be. Az adatokból látható, hogy a fibroin eredete szerint más és más összetételű, tehát kémiaiilag nem egységes anyag.

A selyem származása	A selyem enyvtartalma	Glükocholl	Alanin	Serin	Leucin	Aszparagin- sav	Glutamin- sav	Prolin	Phenyl- alanin	Tyrosin	Arginin
	százalékokban										
New-Chwang-selyem ...	20	19·7	23·8	1·0	1·6	2·9	1·7	1·85	1·2	9·8	—
Canton-selyem	20·8	37·5	23·5	1·5	1·5	0·75	0	1·0	1·6	9·8	—
Bengáliai selyem	20-21	30·5	20·0	1·75	1·2	0·8	nyo- mok- ban	1·0	1·4	10·0	—
Indiai tussah-selyem ...	16	9·5	24·0	2·0	1·5	2·5	1·0	1·0	0·6	9·2	—
Chefooi selyem... ..	15	12·5	18·0	1·0	1·2	2·0	2·0	2·5	1·0	8·5	—
Olasz-selyem	25	36	21	1·6	1·5	jelen van	—	0·3	1·5	10·0	1
Canton-selyem enyve ..	—	1·2	9·2	5·8	5·0	2·5	2·0	2·5	0·6	2·3	—

Jellemző tehát a fibroinokra magas glükocholl-, alanin- és tyrosin-tartalmuk. Kémiai összetételük nagy átlagban 47·98—48·39 % C; 6·21—6·5 % H és 17·8—18·89 % N. Savak és lúgok elbontják. Erős sósavas oldatát alkoholba öntve, a *sericoïn* keletkezik, melynek nitrogéntartalma az eredeti fibroinéhoz képest csekély, e közben albumózok és peptonok is keletkeznek. A pepszin és tripszin hatástalan a fibroinra, ellenben a színtelen vérséjtek enzimei lassan feloldják.

Egyéb albuminoid, melynek tanulmányozása még befejezetlen, a szivacsok vázában előforduló *spongin*, a csigák héjának szerves alapanyagát létesítő *conchiolin*, a kóros szövetfajulásokban jelenlevő *amyloid*, a halpikkelyekben az enyvvel közösen jelentkező *ichthylepidin*, az izomrostok burkát alkotó *sarkolemma*, stb. stb.

II. Összetett proteinek (proteidek).

1. Phosphoproteidek.

Kázein. A tejnek legfontosabb és legjellemzőbb proteinje. A különféle állatok tejében jelenlevő kazeinek oldhatóság, kicsapódásra való hajlandóság és hidrolizáló hatásokkal szemben tanúsított viselkedés tekintetében eltérnek egymástól. Legjobban ismeretes a tehéntej kazeinja, melynek chemiai összetétele: 52·96—54·0% C; 7·04—7·13% H; 15·6—15·91% N; 0·76—0·82% S és 0·8—0·85% P. 100 g. tehéntejből származó kazein savakkal végzett hidrolízis után 0·9 g. alanint, 6·69 g. valint, 7·92 g. leucint, 1·43 g. izoleucint, 0·43 g. serint, 1·2 g. aszparaginsavat, 10·77 g. glutaminsavat, 6·7 g. prolint, 3·5 g. phenylalanint, 4·5 g. tyrozint, 2·0 g. tryptophant, 2·6 g. hisztidint, 4·8 g. arginint, 5·8 g. lysint, 1·8 g. ammoniát, 0·23 g. oxyprolint és csekély mennyiségű cystint létesített. A kazeinban találta Fischer E. és Abderhalden E. a még kevésbé ismert *diaminotrioxydodekansavat*¹ is. A tehéntej, kecsketej és női tej kazeinjének hydrolizisekor keletkező aminosavak mennyiségéről a következő táblázat nyújt felvilágosítást:

A kázein származása	Glükokoll	Alanin	Leucin	Aszparagin- sav	Glutamin- sav	Prolin	Phenyl- alanin	Tyrozín
	százalékokban							
Tehéntej.....	0	0·9	10·5	1·2	10·7	3·1	3·2	4·5
Kecsquetej.....	0	1·5	7·4	1·1	11·25	4·62	2·75	4·95
Női tej.....	0	1·2	8·8	1·0	10·95	2·85	2·8	4·6—4·7

A kázeinre jellemző a glükocholl hiánya, továbbá a magas tyrozín- és tryptophantartalom. Ezzel összefügg az a tulajdonsága, hogy pepszin és tripszin hatására könnyen hidrolizál; kivételesen ezt a változatlan proteint az erepszin is megtámadja. Sav feleslegében sókeletkezés közben oldódik, lúgokban eleinte gyorsan, a sókeletkezés beállta után lassabban oldódik. Lúgokkal létesített sóiban legalább 4—6 bázisú sav

¹ Fischer E. és Abderhalden E.: Zeitschr. f. physiol. Chemie, 42, 540 (1904).

szerepét viszi, ezzel magyarázható sóinak különböző oldhatósága. A szabad kázein vízben oldhatatlan, a közömbös nátrium- és ammoniumsója ellenben könnyen oldódik; a savanyú sók oldhatók ugyan, de erősen opalizálnak. A calciumsója sokkal nehezebben oldódik és zavaros folyadékot létesít, még inkább áll ez a baryumvegyületre nézve. Az *eukázein*-nek nevezett termék a kázein ammoniumsója, a *nutróz* és a *plazmon* pedig a nátriumsója. A tejben mint dikázeincalcium fordul elő és calciumphospháthoz van kötve. Valószínű, hogy a calciumkazeinát a különben oldhatatlan calciumphosphátot oldatban tartja. A kázein kicsapódásakor a calciumphosphát is kiválik. Előállítására úgy történik, hogy a tejet eczetsavval kicsapjuk, a csapadékot hígított ammoniában vagy nátriumcarbonátban a lúgos kémhatás elkerülése mellett oldjuk, majd a kicsapást és oldást néhányszor megismételjük. Most a zsír eltávolítása céljából a nyers terméket alkohollal és éterrel, végül pedig ismét eczetsavval és nátriumcarbonáttal tisztítjuk. A zsírtalanítás megkönnyítése végett célszerű a nagyban előállított zsírtalanított sovány tejből kiindulni. Oldható sóit melegítve, nem denaturálódik; száraz állapotban melegítve, vagy hosszabb ideig állani hagyva, különösen a tiszta kazein olyképpen alakul át, hogy annak következtében a proteolites enzimek hatásának erélyesen ellentáll.

A tejből timsó csakis a kázeint csapja ki, míg a többi protein oldatban marad; timsóoldat fölöslege a csapadékot újból feloldja. Ha alkoholból 90%-nyi van jelen, a kázein kicsapódik. A kázein és sói az oldatból kiválnak, ha a folyadékot konyhasóval, magnéziumsulfáttal, vagy nátriumsulfáttal telítjük. Az ammoniumsulfáttal való kicsapódás határai 2·2—3·6; csekély zavarodás már 1·2 koncentráció mellett is mutatkozik. A vizsgálatoknál rendkívül zavarhat a kémszereknek akármilyen csekély calciumtartalma. Különösen fontos, hogy a konyhasóoldat calciumtól mentes legyen.

A calciumkázeinát, vagy a calciumphospháttal keletkezett vegyülete fizikai hatások következtében is kiválhat az oldatból. Így agyag, vagy vérszénnel való érintkezés, vagy chloroformmal való állás elég ahhoz, hogy a kázein a tejből kiváljék.

A kázeinnak fontos enzimes átalakulása a megalvadás, melyet oltó hatására lehet észlelni és mely a kázein kicsapódásán alapszik. Ha a folyadék kázeintartalma kicsi, a kázein pelyhekben válik le, ha azonban nagy, mint a tehéntej esetében, a folyadék megmerevedik s később vastag darabokat választ le. Ez a sajt, melyben kazeinen és phosphorsavas calciumon kívül még a tejben levő zsír is jelen van, míg a folyadékban — a savóban — a tejcukron és oldható sókon kívül a tejalbumin és a globulin marad. A tej megaladásának enzimes folyamatánál szükséges egy oldható calciumsónak jelenléte. E közben a kázein

irreverzibilis átalakuláson megy át, melynek következtében a *parakázein* áll elő. Az új termék éppúgy, mint az eredeti kázein, alkalicféhydroxidokban könnyen oldható, ellenben calciumsója oldhatatlan. Ha tehát a folyadékban, melyben a kázeinnak átalakulása parakázeinná végbement, oldható calciumsót tartalmaz, a calcium parakázeinát, vagyis a sajt kiválik és a tej megalvad. A folyamat tehát két egymástól elkülöníthető szakaszból tevődik össze, melyek közül csak az első — a parakázein keletkezése — függ az oltótól; a második, — a parakázein kicsapódása — ha a folyadékból előzőleg oxálsavas só segítségével a calciumot eltávolítottuk, be sem következik.

A női tej kázeinja a tehén tejétől összetételben nem különbözik, ellenben megalvadásakor sokkal finomabb pelyhek alakjában csapódik ki, mint a tehéntej kázeinja. Valószínű, hogy a jelenség oka a két tejnek eltérő foszfáttartalmában és különféle kémhatásában rejlik. Savakkal sem csapódik olyan jól ki a női tej kázeinja.

Vitellin. A tojássárgájában előforduló phosphoproteid. Neuberger vizsgálatai szerint glükózamincsoportot is tartalmaz. Megalvadási hőmérséklete 75° . Vízben oldhatatlan, konyhasóoldatban oldódik és dialízis alkalmával éppen úgy, mint a globulinok, kicsapódik.

Ichtilin. Olyan szerepet visz a halak petéjében, mint a vitellin a tojás sárgájában. Kristályos állapotban ismeretes.

Kevésbé ismeretes phosphoproteideket tartalmaz globulinok társaságában a sejtek protoplazmája. Ide tartoznak továbbá hiányosan ismert „mucinokhoz hasonló phosphoproteidek“. Fizikai sajátságaik a mucinokra emlékeztetnek, de különböznek tőlük abban, hogy szénhydráts csoportot nem tartalmaznak. Összetételük meglehetősen eltérő; valamennyiben elég magas a kén tartalom: $1.3-1.7\%$.

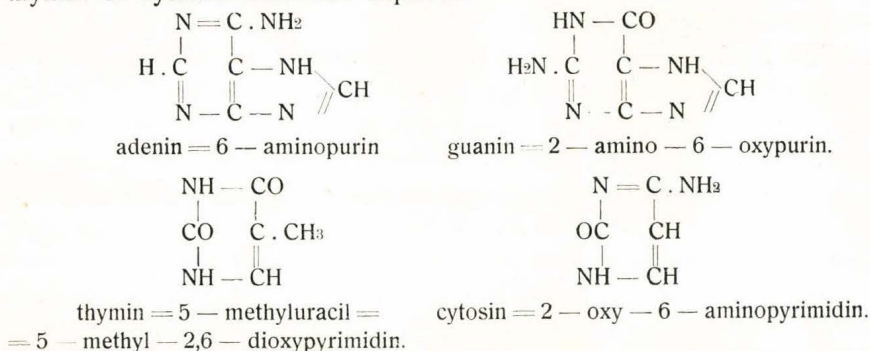
2. Nucleoproteidek.

Előfordulnak a sejtmagvak anyagai között. Nucleinsavakból és proteinekből épülnek fel.

Nucleinsavak. Phosphor- és nitrogéntartalmú, kéntől mentes szerves savak. A nucleinsavak típusa a hering ondókjából és a thymusmirigyből előállított termék, mely savakkal és enzimekkel végzett hidrolízis alkalmával phosphorsavat, adenint, guanint, cytosint, thymint és egy hexózt eredményez. A bomlástermékek mennyisége is meg van állapítva a hexóz kivételével és az eredmény alapján a nucleinsav a következő molekulákból épül fel:

1 mol. adenin,	1 mol. cytosin,
1 mol. guanin,	4 mol. phosphorsav,
1 mol. thymin,	4 (?) mol. hexóz.

Az áttekinthetőség megkönnyítésére mellékelem az adenin, guanin, thymin és cytosin szerkezeti képletét:



Előállításuk úgy történik,¹ hogy az anyagot híg eczetsavval főzzük, a maradékot nátriumhydroxiddal (33 g. NaOH + 2000 g. víz, 1000 g. anyagra + 200 g. nátriumacetát) $\frac{1}{2}$ óra hosszat főzzük, a tömeget forrón, melegíthető tölséren megszűrjük s a szüredékből alkohollal kicsapjuk a nucleinsavak nátriumsóját. A nyers terméket tisztítás végett vízben oldjuk és nátriumacetát jelenlétében alkohollal kicsapjuk.

A Schmiedeberg-féle² eljárás szerint a nyersanyagot réz-chloriddal elegyítjük, miközben oldható sósavas proteinsó és oldhatatlan nucleinsavas rézsó áll elő. A rézsót káliumhydroxiddal és alkohollal főzve, belőle a proteinek utolsó nyomait is el lehet távolítani.

A művelet megismétlése útján tiszta készítményekhez juthatunk. Fehér, alaktalan, nem nedvesedő porok. Hideg vízben nehezen, melegben könnyebben, alkalifémhydroxidokban nagyon könnyen oldódnak. Chemiai összetételük 34—39% C; 4·1—5·5% H; 14·4—17·9% N és 8·7—10% P határok között ingadozik.

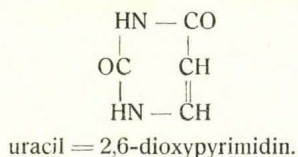
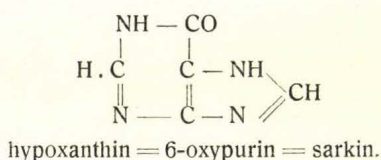
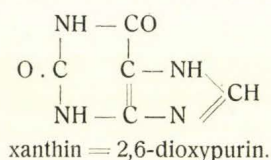
Ásványsavak hatására oldataikból kicsapódnak, sav feleslegében ismét feloldódnak. Kicsapásukra legalkalmasabb sósavtartalmú 50%-os alkohol. Nehéz fémekkel létesített sóik többnyire nehezen oldhatók. Csersavval, pikrinsavval, phosphorwolfrámsavval kicsapódnak. A nucleinsavak négybázisú savként szerepelnek. Nem diffundálnak. Sóik nyálkás, kocsonyás folyadékokat létesítenek. Már 5%-os nátriumsóoldat 42°-ra lehűtve, víztiszta enyvszerű kocsonyává merevedik.

A nucleinsavaknak proteinekkel alkotott sói oldhatatlanok savanyú közegben. Az enyvvel és néhány albumózzal is nehezen oldható sókat alkotnak. Érdekes sajátsága a nucleinsavaknak, hogy purinbázisokat és húgysavat oldatban tartanak. Nucleinsavak jelenlétében az utóbb említett anyagok meghatározása hiábavaló.

¹ A. Neumann: Archiv für Anatomie u. Physiologie, 1889. Suppl. 553. 1.

² O. Schmiedeberg: Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie, 43, 65 (1899); 57, 309 (1907).

Nátriumacetát jelenlétében híg alkalicímhydroxidokkal szemben ellentállók, savak hatására azonban könnyen hidrolizálódnak. A sav működése következtében legkönnyebben a guanin és az adenin szabadulnak fel. Mivel a két bázis nitrátja nehezen oldható és jól kristályosodik, a nucleinsavak felismerésére szolgál az a tulajdonság, hogy erős salétromsavval, melegítés nélkül, a két nitrát keletkezik. A salétromsav egyúttal a szénhidrátmaradékot oxidálja. Kénsavas oldatban a nucleinsav molekulája teljes hidrolizist szenved, a felszabaduló termékek azonban a sav dezamidáló hatása következtében tovább alakulnak. Így lesz a guanin egy részéből xanthin, az adeninból pedig hypoxanthin. Ugyanekkor a cytosin uracillá alakul, s a dezamidálás melléktermékeképpen ammonia is megjelenik a bomlástermékek között. Az eredetileg 4 bázis helyett tehát teljes hidroliziskor hetet találunk, mert a fent leírtakon kívül még xanthin, hypoxanthin és uracil is keletkezik.



Ugyanekkor a szénhidrátmaradék huminanyagok keletkezése mellett laeulinsavvá és hangyasavvá alakul.

Teljesen közömbös közegben túlhevített vízgőz hatására a nucleinsavak részleges hidrolizise olyképpen megy végbe, hogy csak phosphorsavmaradék válik le, míg a purinok a szénhidrátmaradékkal összefüggésben maradnak.

A nucleinsavak hidrolizise forró kénsavval és a keletkezett termékek elválasztása.

Miután a nucleinsavat forró 15%-os kénsavval 5 óra hosszat hidrolizáltuk, a kénsavat és phosphorsavat forró báriumhydroxidoldattal kicsapjuk, a csapadékot többször vízzel kifőzzük, a szüredékeket egyesítjük, besűrítjük és kénsavval megsavanyítjuk, úgy hogy az oldat belőle 5%-ot tartalmazzon, majd erélyesen működő extraháló készülékben éterrel oldjuk ki a folyadékot.

A laeulinsav és a thyminnek egy része ilyenkor az éterbe megy át. Belőle a laeulinsavat ezüstsó alakban választhatjuk le és határozhatjuk meg. Az anyalúgból enyhe melegítéssel elűzzük az étert, a kihűlt

folyadékot pedig phosphorwolfrámsavval elegyítjük. Mihelyt a csapadék már nem pelyhes, hanem aprószemű, homokszerűvé vált, a kémszer adagolását abbahagyjuk, nehogy a thymin is leváljék. A csapadékot leszűrjük és 5%-os kénsavval többször eldörzsöljük, majd ismét leszűrjük és leszívjuk.

A csapadékban van a guanin, adenin, xanthin, hypoxanthin és a cytosin, míg a szüredék a két hátralevő pyrimidinbázist tartalmazza. A csapadékot forró vízben finomul szétoszlatjuk, vízfürdőn melegítjük és gyors keverés közben forrón telített báryumhydroxidoldatot csepegtetünk hozzá, a míg a folyadék kékes színe sárgába csap át. Még egy darabig folytatjuk a melegítést és kavarást, majd a phosphorwolfrámsavas báryumcsapadékot leszűrjük, forró vízzel többször kifőzzük s az egyesített szüredékből teljesen kicsapjuk a báryumot, végül salétromsavval gyengén megsavanyítva a folyadékot, belőle a purinbázisokat 20%-os ezüstnitrát-oldattal leválasztjuk. Ilyenkor a szüredékben a cytosin marad. A csapadékot előbb ránczos szűrőn leszűrjük, majd leszívjuk és ezüstnitrát-tartalmú vízzel kimossuk, majd ammoniás vízzel melegítjük, miközben az ezüstnitrátvegyületek ezüstvegyületekké alakulnak. A csapadékot leszűrjük és ammoniás vízzel addig mossuk, míg a lecsepegő folyadékban salétromsavat kimutatni már nem lehet. Most a csapadékot forró vízben szétoszlatjuk, sósavval az ezüstöt eltávolítjuk és a szüredéket szárazra párologtatjuk. A visszamaradt chloridok keverékéből először a *guanint* választjuk le. E végett a sötömeget forró vízben oldjuk és forró 10%-os ammoniával elegyítjük, mire rögtön megkezdődik a guanin kiválása. 24 órai állás után a csapadékot leszűrjük, még egyszer 2%-os meleg ammoniával pállítjuk, végül megsűrjük, híg nátronlúgban oldjuk és eczetsavval újból leválasztjuk. Azonosítására alkalmas a hosszú tűkben kristályosodó sulfát $(C_5H_5N_5O)_2H_2SO_4$.

A guaninszüredéket bepárologtatjuk szárazra, a maradékot gyengén sósavas vízben oldjuk és tömény nátriumpikrátoldattal addig elegyítjük, míg csapadék már nem képződik. Ilyenkor az *adenin* válik le pikrátja alakjában. A csapadékot gyorsan leszívjuk, forró vízben ismert mennyiségű nátriumhydroxid jelenlétében oldjuk, majd az egyenértékű mennyiségű sósav hozzáadása után vérszénnel szintelenítve, a szüredéket állni hagyjuk. Nemsokára hosszú, fénylő, sárga tűkben válik le az adeninpikrát, melynek olvadáspontja 281^0 ; összetétele $C_5H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7$. A sulfátja két molekula vízzel kristályosodik és szobahőmérsékleten körülbelül 150 s. r. vízben oldódik.

A xanthint és hypoxanthint tartalmazó szüredéket ammoniával elegyítjük és ammoniás ezüstnitrátoldattal kicsapjuk. Az ammoniás vízzel jól kimosott csapadékot sósavval elbontjuk s a chloridok oldatát szárazra párologtatjuk. A maradékból 40%-os vízben a hypoxanthinchlorhydrát fel-

oldódik, míg a xanthinsó visszamarad. A *hypoxanthint* pikrátja segítségével tisztítjuk és nitráttá alakítjuk: $C_5H_4N_4O \cdot HNO_3 \cdot H_2O$. A szabad bázis szintelen mikroszkópos kristályokban válik ki; 70 s. r. forró és 1400 s. r. hideg vízben oldódik. Savban és lúgban könnyen, alkoholban alig oldódik. A visszamaradt *xanthint* nehezen oldható nitráttá alakítjuk. Mint szabad bázis azonosítható. 1300—1400 s. r. forró és 13—14,000 s. r. hideg vízben oldódik. Vagy vízmentesen alaktalan tömegben, vagy kristályosan 1 molekula vízzel válik ki.

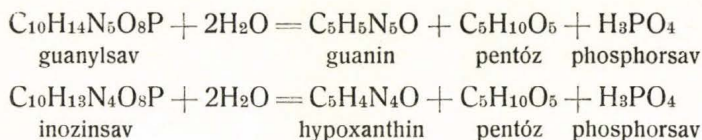
Az ezüstsók szüredékében marad a *cytosin*. Ezüstsóját úgy kapjuk, ha a szüredékbe tovább töltünk ezüstnitrátoldatot addig, a míg a kivett próba ezüstnitráttal már nem fehér, hanem barna csapadékot idéz elő. Most addig keverünk a tömeghez báryumhydroxidot, míg phenolphtalein már gyengén lúgos kémhatást mutat, mire a csapadékot leszívjuk, báryumhydroxiddal alaposan kimossuk, sósavval elbontjuk, a szüredékben jelenlevő báryumot kénsavval pontosan kicsapjuk és a cytosint platinachloriddal, vagy pedig nátriumpikráttal választjuk le. A pikrát tisztítását úgy végezzük, mint ezt az adeninnál leirtam. Platinasója $(C_4H_5ON_3)_2H_2PtCl_6$; 30·84% platinát tartalmaz. Pikrátja $C_4H_5ON_3 \cdot C_6H_3O_7N_3$ világossárga, fénylő tüket alkot, melyek 255°-nál barnulnak és 270°-nál elbomlanak.

A phosphorwolfrámsavval előállított csapadék szüredékében jelenlevő thymín és uracil elkülönítése céljából a folyadékból először báryumhydroxiddal eltávolítjuk a phosphorwolfrámsavat, a csapadék szüredékéből pedig kénsavval pontosan leválasztjuk a báryumot. A folyadék besűrítésekor kiválik a *thymín*, mely alkoholból való kristályosítás útján tisztítható. Közöséges hőmérsékleten 350 s. r. vízben oldódik. A későbbi kristályrészletekben már uracilt is találunk. A két termék elválasztására Johnson¹ nitroszármazékaiknak különböző oldhatóságát alkoholban, ajánlotta. E végett a 100°-on megszárított és finom porrá dörzsölt maradékból minden grammot 10 cm³ 1·5 fajsúlyú salétromsavban oldunk és 50—60°-nál szárazra párolunk. Ilyenkor 5-nitrouracil és oxynitrothymín keletkezik. A maradékot finom porrá törjük és grammonként 1·5 cm³ hideg alkohollal dörzsöljük el. Az 5-nitrouracil ilyenkor oldatlanul marad vissza.

A nucleinsavak és közbeeső bomlási termékeik enzimek hatására is hidrolizálódnak, illetve átalakulnak; ezekről az enzimek részletes tárgyalásánál (nucleáz, guanáz, adenáz) lesz szó.

A nucleinsavakon kívül a nucleoproteidekben még a *guanylsav* és az *inozinsav* is szerepel. Mindegyikben egy-egy purinbázis, egy pentóz és egy phosphorsavmolekula van jelen, még pedig:

¹ Johnson T. B.: Journal of Biological Chemistry, 4, 407—418 (1908).



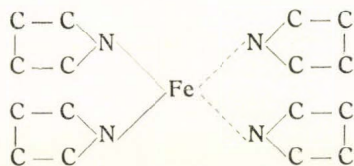
A *guanylsav* előállítása céljából a hasnyálmirigyet vízzel főzzük és a szüredékből nagyon híg ecetsavval a nucleoproteidot kicsapjuk. A terméket 2%-os káliumhydroxiddal bontjuk el és a folyadékot kén-savval pontosan telítjük, mire kihüléskor guanylsavas kálium válik ki, melyet úgy tisztítunk, hogy nátriumhydroxidban oldjuk és nátriumacetát jelenlétében ecetsavval kicsapjuk. A benne szereplő pentóz, d-ribóz, mely mellett talán xilóz is van. A guanylsav sói szintén kocsonyás olda-tokat létesítenek.

Az *inozinsav* a húskivonatban fordul elő. A hidrolizisekor keletkező pentóz valószínűleg szintén d-ribóz.

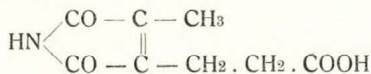
A *nucleoproteidek* általános jellemzéséről már fent szóltam. Elő-állították őket a halak ondószálainak fejéből, a hol a nucleinsavak pro-taminokhoz vannak kötve. Ismereteseek a thymus-mirigykészítmények, melyekben a proteincsoportot hisztonok képviselik; ugyancsak hasonló alkotású nucleoproteidokat találtak madarak és hüllők vérsajtjeinek mag-vában. Nucleoproteidokat különítettek el a hasnyálmirigyből, a májból, egyéb állati szervekből, az élesztőből, továbbá buzából, máléból, cukor-répából stb.

3. A haemoglobin és rokonai.

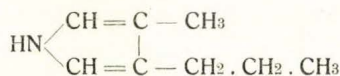
Haematin. Valószínűleg négy pyrrolmagból épül fel, melyeket egy két vegyértékű vasatom tart fő és járulékos affinitásaival össze, mint azt a mellékelt képlet mutatja:



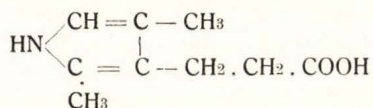
A négy pyrrolmag azonban nem egyforma. Kettőből csakis haema-tinsav



keletkezhetik, míg a másik kettő vagy oxidáció útján haematinsavvá, vagy redukció útján haemopyrollá



alakul. A haematin bomlási termékei között még a haemopyrrolcarbonsav



is szerepel. A savak a pyrrolmagokban nem mindig szabadok; carboxyljuk sokszor éter, vagy anhydrid alakban van lekötve. Azt a haematint, melyben a két vegyértékű vas szerepel, α -alaknak nevezik. A haemoglobin pepszines hidrolizise útján állították elő. Belőle két ferrivegyület származtatható le. Egyik a β -haematin, mely valószínűleg az α -alakból polimerizálás útján létesült, s éppen azért kevésbé alkalmas a reakcióra; a másik pedig a haemin.

A haemin azért fontos, mert legtöbbször kiindulási anyag. Küster¹ szerint összetételét a $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{FeClO}_4$ képlet fejezi ki és az α -haematinnak sósavas sója volna. Az oldószereivel (amylalkohol, ecetsav stb.) könnyen vegyületeket alkot. Előállítására céljából² 1 liter, fibrinjétől megfosztott és vásznan megszűrte vért 4 térfogat 80° -ra melegített jégecettel elegyítünk, megvárjuk a míg a folyadék hőmérséklete 55 – 60° -ra süllyedt, s akkor ismét 80° -ra melegítjük. Már kihüléskor megkezdődik a haeminkristályok kiválása, mely 10 – 12 óra múlva teljes lesz. A kristályokat leöntéssel vízzel mossuk, végül megszűrjük és alkohollal és éterrel kezeljük. 1 liter vérből 5 g. haemint is állíthatunk elő. Mikroszkópos barna triklin lemezekben kapható.

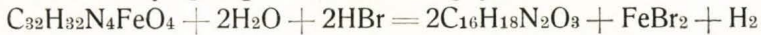
A β -haematin a haeminből már hideg lúggal való elegyítés és sósavval való kicsapás útján keletkezik. Küster szerint $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{FeO}_5$ összetételű. Valószínűleg polimerizálás útján képződik az α -haematinból. Alaktalan, kékesfekete por, mely vízben, alkoholban, éterben oldhatatlan, jégecsetben és savakban kevésbé, lúgokban, savtartalmú alkoholban és éterben könnyen oldódik. Spektruma nagyon hasonló a savanyú methaemoglobinéhoz.

A haemochromogén a haematin redukálásakor keletkezik, de a redukált haemoglobinból közvetlenül is előállítható. Az α -haematinból könnyebben áll elő, mint a β -alakból. Vörös phosphorhoz hasonló por, mely nedves állapotban a levegő hatására könnyen haematinná oxidálódik. Vízben, alkoholban és éterben oldhatatlan; lúgokban ellenben cseresnyevörös színnel oldódik, az oldat semlegesítésekor újból kiválik. Pyridinnel jellegzetes kristályokat létesít. Szénmonoxiddal és nitrogénmonoxiddal éppen úgy mint a haemoglobin, vegyül. Savak erőyes hatására a vasat eltávolíthatjuk molekulájából.

¹ Küster W.: Zeitschrift f. physiolog. Chemie, 66, 165 (1910).

² Schälfejew M.: Journ. d. russ. physik.-chem. Gesellschaft, 17, 30–37 (1885). Berichte der deutschen Chemischen Gesellschaft 18, ref. 232 (1885).

Haematoporphyrin. Hydrogénbromiddal telített jégecet hatására haeminből keletkezik, ha a reakciókeveréket előbb szobahőmérsékleten hagyjuk állni, majd pedig vízfürdőn melegítjük:



Ha a sötétvörös folyadékot nátriumhydroxiddal elegyítjük, leválik a haematoporphyrin. Sav, mely egy- és kétbázisú fémsókat alkot, ezenkívül imidcsoportjának jelenléte miatt sósavas só is létesít. Alkáli-fémhydroxidokban és ásványsavakban oldódik; eczetsavban, báriumhydroxidban és mészvízben nem. Alkoholban vörös színnel jól oldódik. A színeződés lúgok jelenlétében sárgásba, savak jelenlétében ibolyába csap át. Hydrogénjodiddal és phosphoniumjodiddal óvatosan redukálva *mesoporphyrin* $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ létesít. Ugyanezt a terméket ugyanezen az úton a haemin is létesíti. Erélyesebb redukálás *haemopyrrol* $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}$ keletkeztet.

Globin a neve a haemoglobin proteinalkotórészének. A hisztionokkal közös sajátsága az, hogy lúgok oldataiból kicsapják. Összetétele: 54·97% C; 7·2% H; 16·89% N; 0·42% S. Aminósavai között a hisztidin nagy mennyiségben van jelen; valószínűleg ezzel függ össze viselkedése lúgokkal szemben. A pepszin és a tripszin könnyen hidrolizálják.

Haemoglobin. A vörös vérsejteknek festékanyaga, mely a sejt legnagyobb része. Összetételéről a következő összeállítás nyújt felvilágosítást:

A haemoglobin származása	C %	H %	N %	S %	Fe %	O %
Lóvér ...	54·40—54·87	6·97—7·20	17·06—17·61	0·42—0·67	0·38—0·47	19·77—20·12
Kutyavér ...	53·85—54·57	7·22—7·32	16·17—16·43	0·39—0·57	0·34—0·43	20·43—21·84
Sertésvér ...	54·17	7·38	16·23	0·66	0·43	21·36
Tengerimalacsvér ...	54·12	7·36	16·78	0·58	0·48	20·68
Libavér ...	54·11—54·26	6·83—7·10	16·21—16·58	0·54—0·65	0·51—0·59	20·69

Látjuk, hogy a haemoglobin a szénben és nitrogénben gazdag proteinekhez tartozik. Legjellemzőbb sajátsága a haemoglobinnak, hogy oxigént véve fel, könnyen oxyhaemoglobinná alakul. E végett elég a haemoglobint levegővel összerázni, mire az élénk vörös színű oxyhaemoglobin létesül. Utóbbi nehezebben oldható, mint a közönséges, vagy redukált haemoglobin, továbbá savjellegű, mit a redukált haemoglobinnal nem állíthatunk. A kétféle haemoglobin egymástól spektrumában jellegzetesen eltér. Az élő szervezetben nagyon fontos szerepe van az oxyhaemoglobinnak, mely a szövetekben mindenüvé eljuttatja az oxidációhoz szükséges oxigént és mint redukált haemoglobin tér vissza a tüdőbe,

hol újra oxyhaemoglobinná alakul. A haemoglobin grammonként legkedvezőbb esetben 1.3 cm^3 oxigént vesz fel és belőle az oxigén egy része ritkított levegőjű térben eltávolítható. Könnyen előállítható kristályosan is. Megalvadási hőmérséklete 60° körül van. A közönséges proteinektől eltérően már chloroformmal rázva is kiválik a folyadékból. A tripszin hatásának, különösen a míg az élő sejtben van jelen, rendkívül ellentáll.

A haemoglobinnak a labilis oxyhaemoglobinon kívül van egy állandó oxigénvegyülete is. Ez a *methaemoglobin*, mely állandóságát valószínűleg annak köszönheti, hogy benne, mint a haeminben és a β -haematinben, a három vegyértékű vas szerepel. Methaemoglobin képződik az oxyhaemoglobin állása közben, különösen ha alkohol is van jelen. Ezenkívül számos anyag: jód, chlorátok, permanganát, nitrit, pyrogallol, hydrochinon stb. hatására szintén methaemoglobin áll elő. Sajátságos, hogy a felsorolt anyagok közt redukálószeres is szerepelnek. Amylnitrit, nitrobenzol és antifebrin hatására még az élő szervezetben is keletkezhetnek methaemoglobin. Ammoniumsulfid és egyéb redukáló anyag előbb oxyhaemoglobint, majd haemoglobint létesít. A methaemoglobin legjellemzőbb sajátága, hogy belőle nyomáscsökkentéskor nem távozik el oxigén, ezzel együtt jár, hogy az élő szervezetben sem képes oxigénjét átadni, miért is hasznavehetetlen. Savanyú és közömbös oldatban barna színű, lúgos oldatban vörös. Kristályos állapotban is ismeretes. Spektruma jellemző.

Savak hatására a haemoglobin, haematin és globinra bomlik. A rövid ideig tartó és gyenge sav okozta hatás eredménye egy közbeneső termék, az *acidhaemoglobin*. Színe barna és a spektruma a methaemoglobinéhoz hasonló, de nem azonos. Spektroszkópos viselkedése alapján az oxyhaemoglobin és a haematin között foglalt helyet. Széndioxidnak huzamos ideig tartó hatására is előáll.

A haemoglobin a szénmonoxiddal is létesít vegyületet. Ez a *szén-oxidhaemoglobin*. Oldatának színe világos cseresnyepiros, habja ibolyaszínű. Kristályai az oxyhaemoglobinéival izmorfok, színük azonban sötétebb, kékes. Vákuumban sokkal nehezebben vesztí el szénoxidját, mint az oxyhaemoglobin oxigénjét. Éppen ez okozza, hogy, ha a levegőben aránylag kevés is a szénoxid mennyisége, a vérből mégis lassan kiszorítja az oxigént. Ezzel magyarázható a szénoxid mérgező tulajdonsága is. Redukáló anyagokkal, például ammoniumsulfiddal szemben ellenálló. Minthogy spektruma hasonló az oxyhaemoglobinéhoz, ez az ellenállósága arra használható fel, hogy az oxyhaemoglobintól könnyen megkülönböztessük. Átalakítása methaemoglobinné is sokkal nehezebb.

A haemoglobin nitrogénmonoxiddal is létesít vegyületet. Ez a *nitrogén-oxidhaemoglobin*. Kristályalakja és spektruma hasonló az oxyhaemoglobinéhoz. Nehezen redukálható. Hydrogénsulfid hatására a

haemoglobinból *sulphaemoglobin*, hydrogécyanid hatására pedig *cyan-methaemoglobin* áll elő.

A fejlábúak vérében réztartalmú proteid van jelen, melyet *haemocyandin*-nak neveztek el. Szerepe olyan, mint a magasabbrendű állatok vérében a haemoglobiné. A virágos moszatokban levő *phykoerythrin* és a cyanophyceae moszatok *phykocyan*-ja szintén ebbe a proteidcsoportba tartozik.

4. Glükoproteidek.

Mucinok. A legtöbb nyálkás váladékban előfordulnak. Jellemző tulajdonságuk, hogy nagy hígításban is nyulóssá teszik a folyadékot, melyben jelen vannak. Összetételüket a mellékelt táblázatban foglaltam össze :

A mucin származása	C %	H %	N %	S %	O %
Marha nyálmirigye... ..	48·84	6·80	12·32	0·84	31·2
Emberi nyál mucinja	48·17	6·91	10·8	1·42	31·7
Mucin csiga köpenyéből ...	50·3	6·84	13·62	1·71	27·53
Mucin csiga talpából	50·45	6·79	13·66	1·6	27·50

A mucin száraz állapotban színtelen, laza, alig nedvesedő alakú tömeg. Vízen és közömbös sóoldatban nagyon nehezen oldódik; eczetsav hatására nyulós, ragacsos alvadékká létesít. Híg lúgokban közömbös, sőt gyengén savanyú kémhatással oldódik. Ez a viselkedés a mucinok savjellegére vall. A lúgokkal létesített oldat még 0·23%-os mucintartalommal nyulós és ragacsos. A folyadékból híg eczetsavval kicsapható a mucin. Sósavban a mucin már 0·1—0·2% jelenlétében feloldódik. Ha a folyadékban sók vannak, a kicsapás nem sikerül. Melegítésre a mucin nem alvad meg. Alkohollal oldatából leválik, de csak elegendő mennyiségű sók jelenlétében. Savakkal szemben ellentálló, alkálifémhydroxidok hatására azonban denaturál, a mi abban nyilvánul, hogy lúgos oldatából eczetsavval pelyhekben válik le és a lúgos oldat sem nyulós többet. A denaturált mucint sók könnyen kicsapják, ásványsavak pedig rendkívül könnyen oldják. Pepszinben és tripszinoldatban a mucin átlátszó, könnyen mozgó folyadékká alakul, mely valószínűleg albumózokat tartalmaz.

Mucoidok. Összetételükben és reakcióikban hasonlítanak a mucinokhoz, ezektől azonban fizikai tulajdonságaikban, vagy pedig abban különböznek, hogy híg savak hatására a folyadékból nem válnak le. Egy

részük oldott állapotban fordul elő a vérsavóban, a tojásfehérjében stb., más részük pedig a szövetek felépítésében vesz részt a kollagénnel együtt. Ilyenek a porcban előforduló *chondromucoid*, mely hidroliziskor redukáló szénhidrát mellett még chondroitinkénsavat létesít. Egyéb mucoid van jelen az inakban, a csontokban, a köldökzsinórban és a tojásfehérjében.

Vannak phosphortartalmú glükoproteidek is, melyeket azonban nagyon hiányosan ismerünk. Ide tartozik a kerti csigának fehérjemirigyéből elkülönített *helicoproteid*.

A proteinek enzimes hidrolizisekor jelentkező közbeeső termékek.

Albumózok és peptonok.

Részleges hidrolizis útján a proteinek kisebb molekulájú albumózokra és peptonokra bomlanak, melyek többé-kevésbbé még hasonlítanak a változatlan proteinhez, de jóval oldhatóbbak és kolloidális tulajdonságaik se annyira jellegzetesek. Összehasonlíthatók a dextrinekkel, melyek a magasabb rendű polisaccharidok és a kristályos cukrok között foglalnak helyet és éppen oly kevésbé jellemezhetők, mint azt a dextrinekről láttuk, mert rendesen keverékek, melyekben az átalakulási termékek egész sorozata szerepel.

Kühne szerint ezen átalakulási termékek közül *peptonok*-nak azokat nevezzük, melyeknek oldhatósága már olyan nagy, hogy őket könnyen oldható sók segítségével a vizes oldatból leválasztani nem lehet. A csapadékos reakcióknak csak egy részét mutatják, ellenben a biuretkémlés valamennyinél sikerül. A többi színreakciót csak kivételesen észleljük rajtuk. A peptonokkal szemben az *albumóz* névvel jelöljük mindazokat a proteinátalakulási termékeket, a melyek már nem alvadnak meg, ellenben ammoniumsulfáttal, zinksulfáttal stb.-vel az oldatból kisózhatók. A peptonok a szintetikus polipeptidek mellett foglalnak helyet. Legjobb megegyezni abban, hogy a polipeptid nevet csak a szintetikus készítményekre használjuk, míg peptonoknak azokat az aminosavhalmazokat nevezzük, melyeknek szerkezete egyelőre ismeretlen.

Különb az albumózoknak megkülönböztetése a peptonoktól, a kisózhatóság alapján szintén meglehetősen erőszakolt, a mennyiben Fischer Emil vizsgálatai alapján tudjuk, hogy bár a kiválás az ammoniumsulfát jelenlétében a magasabbrendű, tehát sok aminosavból felépített polipeptidek sajátja, van olyan tripeptid is, pl. a dileucylcystin, továbbá egy tyrosintartalmú tetrapeptid is, mely kisózható, a Kühne-féle beosztás szerint tehát már az albumózok közé volna sorozandó.

Ezeket a kivételes eseteket nem tekintve, jobb beosztás híján meg

kell elégednünk a Kühne-féle albumóz- és peptonbeosztással, annál is inkább, mert az albumózok oldhatóságuk és csekély dializálhatóságuk miatt is kétségtelenül nagyobb molekulásúak, mint a peptonok.

Az albumózok fehér, elporítható, levegőn nem nedvesedő és nem kristályosodó anyagok. A heteroalbumózok kivételével vízben könnyen oldódnak; még könnyebben oldhatók sóik. Kevesebb-több alkohol jelenlétében kicsapódnak, hígított szeszben ellenben egy részük oldható. Valamennyi adja a biuretreakciót vörös-ibolya színeződéssel és a xanthoproteinreakciót. Ferrichloriddal, normális és bázisos ólomacetáttal, mercurichloriddal, platinachloriddal és más fémsóval kicsapódnak; a csapadék azonban a kémszer fölöslegében feloldódik. Rézacetáttal egy részük, az *elsőrendű albumózok*, kiválnak, míg a peptonokhoz már közelebb álló, kisebb molekulású *másodrendű albumózok* (deuteroalbumózok) nem. Ferrocyanhydrogénsav kicsapja őket, peptonok jelenléte azonban sokszor zavar. A csapadék melegítéskor feloldódik, az oldat kihülésekor újra megjelenik. Az elsőrendű albumózokat salétromsav oldataiból leválasztja, míg a másodrendűeknél csak akkor, ha az oldat konyhasót is tartalmaz. A csapadék salétromsav feleslegében, különösen melegítésre feloldódik, kihüléskor ismét leválik. A reakciót a hisztionok is mutatják. Az alkaloidkémszerekkel kivált csapadékok is rendszerint oldódnak a kémszer fölöslegében, különösen ha a folyadékot melegítjük. Kihüléskor a csapadékok kiválnak.

Ammoniumsulfáttal oldataiból az albumózok nyulós, ragacsos csapadékként válnak le és legjobban kavarással választhatók el az anyalúgtól. Az ammoniumsulfáttól legcélszerűbben úgy tisztítjuk meg, hogy az oldatból hideg báriumhydroxidoldattal pontosan kicsapjuk a kénsavat, a szüredéket vákuumban alacsony hőmérsékleten csekély térfogatra sűrítjük be, majd pedig alkohollal az albumózt leválasztjuk.

A peptonok szintelen, száraz porok. Vízben rendkívül könnyen oldódnak; eczetsavban és sók oldatában a folyadék bármely kémhatása mellett oldva maradnak. Egy részük 96%-os alkoholban is oldódik, ellenben a többi használatos oldószerben oldhatatlan. Valamennyien adják vörös színárnyalattal a biuretreakciót, valamint a sárga xanthoproteinreakciót. Nehéz fémsókkal nem válnak ki; az alkaloidkémszerek közül ferrocyanhydrogénsavval és metaphosphorsavval nem létesítenek csapadékot. Csersav, phosphorwolfrámsav, káliumjodomercurát leválasztja őket, a kémszer fölöslegében azonban a csapadék újra feloldódik. Kiválásuk sókkal telített folyadékból könnyebb. A phosphorwolfrámsavval létesített peptoncsapadékokat az alkohol és az aceton oldja. A peptonok határozott savak, a lakmuszt megvörösítik, carbonátokkal pedig sókat létesítenek. Adják a Siegfried-féle carbaminoreakciót. A peptonok

ként nem tartalmaznak, ennél fogva oldatuk alkálifémhydroxiddal és egy csepp ólomacetáttal főzve, barna csapadékot nem létesít.

A peptonok jellemzésére és tisztaságuk fokának megállapítására rendszerint a forgatótehetség mértékét, a báryumsóik báryumtartalmát és a carbaminoreakciónál való viselkedésüket, illetve a $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ hányados meghatározását használjuk.

E célból a peptont meg kell szárítani, a mi csak nagy óvatsággal végezhető, mert a pepton alkohol jelenlétében melegítve, az alkohollal részben étereket létesít. E célból néhány napig szobahőmérséken kénsav fölött vákuumban szárítjuk a peptont s csak azután szárítjuk meg alkoholgőzfürdőben, vákuumban. Mérlegelések alkalmával a peptont befogadó csónakot üveg dugós csőbe helyezzük el.

A forgatótehetség meghatározása a szokásos módon történik. Ha előfordul az az eset, hogy a pepton tisztaságának dacára a vártnál magasabb forgatótehetséget mutat, az oldatot ecetsavba mártott üvegbottal érintjük meg, mire a forgatótehetség rendes értékére száll le.

A báryumsó báryumtartalmának meghatározása céljából a körülbelül 0.3 g. peptont tartalmazó oldathoz fölös mennyiségű báryumhydroxidoldatot elegyítünk, majd széndioxidot hajtunk a folyadékba, a míg az a lakmuszt éppen még kékre festi, mire gyorsan felfőzzük az edény tartalmát s a szüredéket lemérlegelt platinacsészében 70—80°-on vákuumban megszáritjuk. A sót lemérlegelése után elszenítjük, kénsavval többször bepároljuk és a báryumsulfátot megmérjük.

A carbaminoreakció¹ $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ hányadost úgy határozzuk meg, hogy a peptonból 0.5—1 g.-ot 150—200 cm³ vízben oldunk, a jeges vízzel hűtött folyadékba néhány csepp phenolphtaleint és mésvizet, majd pedig 10 cm³ lehűtött méstejet elegyítünk. A méstej 1 s. r. égetett mészből és 5 s. r. vízből készüljön. Most folytonos rázás és hűtés közben addig hajtunk a tömegbe széndioxidot, míg az indikátor színe csaknem eltűnt, azután megint 10 cm³ méstejet elegyítve a tömeghez, megismételjük a széndioxid behajtását. Az egész műveletet még egyszer megismételve, a folyadékot jól összerázzuk 20 cm³ méstejjel, majd a csapadékot gyorsan leszívjuk, a szüredéket 300 cm³ kifőzött vízzel elegyítjük, az edényt dugóval látjuk el, melyben lefelé hajlított nátronmeszes cső van és a folyadékot felfőzzük.

A levált csapadékot a folyadék kihülése után G o o c h- vagy N e u b a u e r-féle tégelyben összegyűjtjük és 120°-on szárítva megmérjük. A szüredéket körülbelül 20 cm³ kénsav hozzáadása után káliumsulfáttal

¹ Siegfried-féle reakció.

bepárolgatjuk Kjehldal-féle lombikban és tartalmában az ismert eljárás szerint a nitrogént meghatározzuk.

Ha a $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ hányadost $\frac{1}{X}$ -el tesszük egyenlővé, akkor X-et a nitrogénmeghatározásnál talált $\frac{1}{10}$ normál sav mennyiségének és a CaCO_3 mennyiségének ismerete alapján az

$$X = \frac{\frac{1}{10} \text{ normálsav cm}^3\text{-e} \times 0.01}{\text{CaCO}_3 \text{ g.}}$$

egyenlet segítségével számítjuk ki.

A pepszines hidrolizisnél keletkező peptonok elkülönítését egy példán mutatom be.

Pepszinglutinpepton előállítása. (Siegfrid módszere szerint.)

A lehető legtisztább zselatinból 1 kg.-nyit 8 liter hideg vízben 12 óra hosszat hagyunk duzzadni, a vizet kétszer tiszta vízzel cseréljük fel. Az utolsó mosóvíz leöntése után a megduzzadt enyvét vízfürdőn melegítjük, mire a tömeg folyóssá lesz, s ekkor 15 l. vízzel felhígítjuk. Erre a folyadékot annyi 25%-os sósavval (245 cm^3 -t) elegyítjük, hogy a savtartalom körülbelül 0.4% legyen azután a tömeget 37%-os thermostátba állítva 5 g. Gruber-féle kereskedésbeli pepszinnel és $10\text{--}15 \text{ cm}^3$ toluollal keverjük össze. Legcélszerűbb a tömeget az emésztési idő alatt lassan keverni motorral s ha nyitott edényben dolgozunk a toluolt gyakran meg kell újitanunk. 5—5 naponként a pepszinből újabb 5 g.-ot keverünk a tömeghez. Mihelyt észrevesszük, hogy a folyadék a kongópapírost már nem kékíti határozottan, a mi rendszerint három napi emésztés után következik be, annyi 2%-os sósavat elegyítünk hozzá, hogy a folyadék 0.3% sósavat tartalmazzon. Ha a savanyú reakció körülbelül 8 nap lefolyása után ismét eltűnt, a keverék sósavtartalmát 0.2%-ra emeljük fel. Körülbelül 12 nap múlva, mikor ismét közömbössé válik az oldat, 2%-os sósav hozzákeverése által 0.1%-nyi sósavat tartalmazó emésztőkeveréket készítünk. A peptonból legtöbbet körülbelül 30 napi emésztés után kapunk; minthogy azonban a maximális pepszintermelés a pepszin minőségétől függ, a pepton mennyiségét időnként meg kell határoznunk. E végett a reakciókeverékből 30 cm^3 -t kristályos ammoniumszulfáttal telítünk, vizes ammoniának ammoniumszulfáttal telített oldatával közömbösítjük és a szüredékből 10 cm^3 -t megíttrálunk olyan oldattal, a melyet 10 g. ferriammoniumszulfátból, 200 g. ammoniumszulfátból és 250 g. vízből készítünk. A folyadékból addig csepegtetünk a peptontartalmú oldathoz, a míg csapadék már nem áll elő, a folyadék próbája pedig káliumthiocyanáttal vörös csapadékot létesít, jelölül annak, hogy a pepton a vasat már nem tudja megkötni. Az elfogyott oldat mennyisége arányos a jelenlévő peptonnal. Ha a pepton mennyisége

már nem növekedik, a reakciókeveréket 37° -on kristályos ammoniumszulfáttal telítjük, a mihez körülbelül 13 kg. só szükséges. Kihülés után a szüredéket megvizsgáljuk, hogy ammoniumszulfáttal telített ammonia vizes oldatával keletkeztet-e csapadékot. Ha igen, akkor a folyadékot addig elegyítjük a kémszerrel, a míg újabb zavarodást észlelni már nem lehet. Most megnézzük, vajjon a szüredék ammoniumszulfáttal telített híg kénsavval létesít-e csapadékot s ha igen, ezzel elegyítjük a reakciókeverék összes szüredékét. Ha albumózcspadékokat már semmiképpen sem kapunk, a folyadékot ammoniumszulfáttal telített ammoniával közömbösítjük és turbinával keverve addig adagolunk bele finom porrá dörzsölt ferriammoniumszulfátot, míg a szüredék újabb kémszer hozzáelegyítésére csapadékot nem létesít, ellenben káliumthiocyanáttal vörösre színeződik. Rendesen 100 g. ferriammoniumszulfát fogy el. A csapadékot összegyűjtjük, majd leszívjuk és telített ammoniumszulfátoldattal addig mossuk, míg chlorreakciót nem észlelünk.

Az albumózoktól való teljes megtisztítás végett a peptont feloldjuk és újból kicsapjuk következőképpen: A csapadékot 2 l. vízzel jól eldörzsöljük, miközben csaknem teljesen feloldódik s most kevés hígított ammoniát öntünk hozzá, mire átlátszó oldat keletkezik, melyet 50 cm^3 20% -os ammoniaoldattal elegyítünk. A leváló ferrihydroxid-csapadékot leszűrjük, vízzel kimossuk, az egyesített szüredékeket kénsavval közömbösítjük és 40° -on ammoniumszulfáttal telítjük. A kihült folyadék szüredékét annyi hígított kénsavval elegyítjük, a míg zavarodás már nem mutatkozik. Ekkor megvárjuk míg az albumózok tökéletesen leülepedtek, azután a tömeget megsűrjük és a szüredékben megnézzük, hogy keletkezik-e benne ammoniumszulfáttal telített ammoniumoldattal csapadék. Ha igen, az egész folyadékot a kémszerrel kicsapjuk és ismét megsűrjük. Olykor a keletkező csapadékok rendkívül lassan szűrhetők. Ezen úgy segítünk, hogy szűrőpapirosdarabkákat tömény ammoniumszulfátoldattal főzünk ki, s ezeket bedobva a zavaros folyadékba, azt turbinával jó darabig erősen keverjük. Ilyenkor az albumózcspadék ráakódik a papiros darabkákra, s a folyadék nemsokára nehézség nélkül szűrhető.

A folyadékot tökéletesen közömbösítjük és belőle finom porrá dörzsölt ferriammoniumszulfáttal ismét kicsapjuk a peptont, és éppúgy mint előbb leírtam, kicsapjuk; majd 2 liter néhány csepp ammoniával elegyített vízzel 40° -on eldörzsöljük, mire a csapadék feloldódik. Ekkor turbinával végzett gyors keverés közben finom porrá őrölt legtisztább báriumhydroxidot adagolunk bele, míg a próba szüredéke még gyenge kénsavreakciót mutat. Óvakodnunk kell a báriumhydroxid fölöslegétől! Most a tömeget megsűrjük, vízzel kimossuk, s az egyesített szüredékbe fölös mennyiségű, hidegen telített báriumhydroxid-oldatot öntünk, addig a míg a kénsavat pontosan telítettük. A megszünt próbának se bárium-

hydroxiddal, se kénsavval nem szabad megzavarodnia. A szüredékeket lehetőleg alacsony hőmérsékleten, erősen csökkentett nyomás alatt besűrítjük sziruppá, melyet 40 cm^3 vízben oldunk, majd addig elegyítjük alkohollal, a míg az oldószer a folyadékban maradandó zavarodást nem okoz. A talált oldatot belecsepegtetjük folytonos kavarás közben 99% -os alkoholba. Az alkohol mennyisége annyi legyen, hogy a peptontartalmú alkoholos oldat minden 15 cm^3 -ére 1 liter absz. alkohol jusson. A leszűrt peptont alkohollal és éterrel kimosva a kétszeres mennyiségű vízben oldjuk és 1 cm^3 25% -os ecetsavval elegyítve, előbb annyi alkoholt öntünk bele, hogy állandó csapadék ne képződhessék, s a folyadékot 2 liter absz. alkohollal keverjük el. Gyakran megtörténik, hogy a pepton nem válik ilyenkor könnyen le. A dolgon úgy segíthetünk, hogy a tömeget vákuumban többször bepároljuk absz. alkohollal, mire a pepton vizet veszít és könnyen szűrhetővé válik. A termelés körülbelül 40 g. A készítménynek elemzési adataiból számított összetétele $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_{10}$, forgatótehetsége $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -81.5^\circ$; baryumsójának baryumtartalma 10.7% és a karbaminoreakció alapján nyert $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ hányados értéke $\frac{1}{7}$.

α -tripszinfibrinpepton. (Siegfried módszere szerint.)

Marhavérből készült fibrin¹ jól kiáztatunk és kisajtolunk. Belőle 8.7 kg.-ot, mely 1.7 kg. száraz fibrinnel egyenlő értékű, 13 liter olyan vízben dörzsölünk el, melyben 20 g. víztől mentes nátriumcarbonát van. A tömeghez 10 cm^3 toluolt és 10 cm^3 chloroformot, majd 5 g. tripszint² keverünk és 20 óra hosszat 37° -on hagyjuk állni. Ezalatt a fibrin feloldódott. Most a tömeget folytonosan lassan keverve, tovább pállítjuk 37° -on és mindennap $10\text{--}15 \text{ cm}^3$ toluolt és $5\text{--}10 \text{ cm}^3$ chloroformot keverünk az emésztőfolyadékba. 6 nap múlva újabb 3 g. tripszin hozzáadása után még három napig hagyjuk a folyadékot 37° -on. Most a turbina megállítása után 15 kg. ammoniumsulfátot adagolunk bele és 15 óra hosszat keverjük a tömeget, miközben az ammoniumsulfát feloldódik, az albumózok pedig kicsapódnak. Az albumózok eltávolítása után talált szüredékkel éppen úgy bánunk el, mint azt a pepszinglutinpepton előállításánál leírtam,³ miközben körülbelül 200 g. ferriammoniumsulfátot fogyasztunk el és a β -tripszinfibrinpeptonhoz jutunk. Ennek elemzése alapján kiszámított összetétele $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$; forgatótehetsége $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -32.4^\circ$, a baryumsónak baryumtartalma 20.2% , a carbaminoreakció alapján meghatározott $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ hányados $\frac{1}{2.15}$.

¹ Előállítását lásd a pepszin kimutatásánál.

² Legjobb a *Rhenania*-gyárból származó hatásos készítményt használni. A gyár fióközlete Hamburgban van és a készítmény onnan beszerezhető.

³ Lásd a 235. lapon.

A szüredéket a β -tripszinfibrinpepton utolsó nyomainak eltávolítása végett ammoniumsulfáttal telített ammoniás oldattal közömbösítjük, majd 20 g. ferriammoniumsulfátporral keverjük el. A levállott és eldobandó csapadék szüredékébe felváltva, ammoniumsulfáttal telített ammoniaoldatot és finomra dörzsölt ferriammoniumsulfátot adagolunk turbinával való keverés közben. A műveletet addig folytatjuk, a míg a keverék megszűrt próbája csak nagyon gyenge biurereakciót mutat. A míg ezt a pontot elértük, körülbelül 1100 g. ferriammoniumsulfátot fogyasztottunk el.

A csapadékot leszűrjük, majd leszívjuk, négyszer befedjük tömény ammoniumsulfátoldattal, végül 3 liter tömény ammoniumsulfátoldattal dörzsöljük el. Miután a tömeget gyors keverés közben 330 cm^3 tömény ammoniumsulfátból és 170 cm^3 tömény kénsavból készült elegyben feloldottuk, ammoniumsulfáttal telített ammoniával újból leválasztjuk a folyadékból. A csapadékot megszűrjük, leszívjuk, négyszer tömény ammoniumsulfátoldattal befedjük, a tányérszűrőről levesszük, ammoniumsulfátoldattal eldörzsöljük, ismét megszűrjük, leszívjuk és háromszor befedjük tömény ammoniumsulfátoldattal. A kisajtott csapadékot most 2 liter vízben eldörzsöljük és gyors keverés közben körülbelül 800 cm^3 20° -os kénsavban feloldjuk, majd $18\text{--}20^\circ$ -on annyi báryumhydroxid finom porát adagoljuk hozzá, a míg a megszűrt próbában a báryumból csekély fölösleget találunk. Végül az egészet felmelegítjük 40° -ra. A csapadékot leszűrjük, leszívjuk, többször kimossuk, a szűrőről levesszük, ismét leszűrjük és leszívjuk. A mosóvizekkel egyesített szüredékből ammoniumcarbonáttal a báryumhydroxid csekély feleslegét eltávolítjuk, s az újból megszűrt folyadékot vákuumban besűrítjük. A pepton alkohollal éppen úgy választjuk le, mint ahogy azt a pepszinglutinpepton előállításánál írtam le. Az előállított készítmény összetétele $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$; forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = -24.5^\circ$; báryumsójának báryumtartalma 21.0% ; a carbaminoreakciónál meghatározott $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ hányados értéke 1:2.3.

Pepszin.

A változatlan proteineket peptonokká hidrolizálja. A reakciótermékek között aminosavak nincsenek.

A pepszin előfordulása. Úgyszólván valamennyi gerinczes gyomor-nedvében megtaláljuk. A háziállatok közül a sertés gyomrában van a legtöbb pepszin. A növényevők gyomrában az enzim már embriókorban jelentkezik, míg a húsevők gyomrában az állat születésekor pepszin még nem mutatható ki. Embernél az embrió gyomrában már a hetedik hónapban megtalálható a pepszin. A hidegvérű állatok gyomrában szintén van a pepszin csoportjába tartozó enzim, mely az emlősök pepszinjével

azonban nem teljesen azonos. E mellett bizonyít az, hogy a hidegvérű állatok pepszinje rendkívül magas savkoncentráció mellett hatásos. A czápák gyomornedvének enzime 1·2—2·2%-os sósav és 2% ecetsav jelenlétében szobahőmérsékleten a fibrint albumózokká alakítja át; Herwerden egy scylliumnál (kisebb czápafaj) az optimális sósav koncentrációt 0·5—1%-nak találta, de 2%-nyi sósav jelenlétében még élénk volt az enzim működése. Az izzadságban diasztáz mellett pepszin is van; nyomainak jelenléte a tejben nem bizonyos. A vizeletben, különösen kóros állapotban van pepszin, mely Matthes vizsgálatai szerint a gyomorból veszi eredetét. Talán felszívódása propepszin alakban történik s csak a vesecsatornában alakul át pepszinné.

A rovarrevő növények emésztőnedvében is van pepszin, mely fehérjéket hidrolizál, de a polypeptidekre hatástalan, ilyen például a *Nepenthes* és a *Drosera* leveleinek váladéka. Más esetben a megemésztett proteinek oldatában aminosavakra is bukkantak, mi arra mutat, hogy a pepszin peptázok társaságában is előfordul a növényvilágban. Vines vizsgálatai szerint pepszin jelen van a takadiasztáz-készítményekben, továbbá több növény magvában (kender, mustár, len, ricinus stb.) ereptáz mellett.

A pepszin előállítása Pekelharing szerint.¹

Sertések gyomrának alapi részéről (fundus) a nyálkahártyát lekaparjuk. A friss gyomrokból körülbelül 10 darabot használunk fel. Az összegyűjtött nyálkahártyát gépen összevagdadjuk és 6 liter 0·5%-os sósavval 37°-on 5 napig pállítjuk, azután megsűrjük. Átlátszó oldatot kaphatunk, ha nagyobb porcellánszűrőre vízben finoman eldörzsölt szűrőpapiros czafatokat öntünk, és vízszűrőszivattyúval a vizet leszívátjuk, majd újra felöntjük szűrőpapirosreszelékkel, úgy hogy több centiméternyi vastag szűrőpapirosréteg keletkezzék. Ha a sertésgyomrokból készített öntelék ezen szívatjuk keresztül, teljesen átlátszó oldatot kapunk, melyet pergamenthólyagba zárva, áramló vízben 24 óra hosszat dializálunk. Eközben a hólyag belsejében a pepszin részben kicsapódik és centrifugálás útján összegyűjthető. Az oldat tisztáját leöntvén, bázisos ólomacetátoldattal, majd pedig ammoniával elegyítjük; terjedelmes, de könnyen szűrhető csapadék származik, melyet tömény oxálsavoldattal dörzsölünk el. A tömeg megsűrítése után sárgásbarna oldatot kapunk, melynek 24—36 óra hosszat tartó dialízise után ismét pepszin válik ki, melyet centrifugálással összegyűjtünk és az első részlettel egyesítünk. Az egyesített pepszin

¹ Pekelharing C. A.: Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 233—244, (1896); 35, 8—30 (1902); Gervin J. W. A.: Zeitschr. f. physiol. Chem. 54, 31—79, (1907); M. Nencki és Sieber N.: Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 291—319, (1901).

nyerskészítményt 37° -on 0.2% -os sósavban oldjuk és ugyanezen a hőmérsékleten szűrjük.

A sárgás oldatot 8–10-szeres mennyiségű vízbe öntjük, majd nagyon híg lúgot addig csepegtetünk bele, a míg az oldat érzékeny kongópapírost már nem kékít meg. Most jégszekrényben 11 óráig hagyjuk a tömeget állni, mire a pepszin kiválása teljes lesz és centrifugálással a termék összegyűjthető. A csapadékot ismét feloldjuk 37° -on lehetőleg kevés 0.2% -os sósavban, majd a csaknem színtelen folyadékot dializáljuk. A művelet közben a pepszin apró csoportokban összetapadó, átlátszó és erősen fénytörő gömböcskék alakjában válik ki. 20 órai dialízis után a csapadékot leszűrjük, óvatosan itatóspapíros között kiszajtoljuk, a szűrőpapírosról levesszük és kénsav, vagy calciumchlorid fölött vákuumban megszáritjuk, majd finom porrá dörzsöljük. A készítmény hamúsínű, levegőn alig nedvesedő por.

Az ólomoxalátról leszűrt és dializált oldatból ammoniumsulfáttal még nagy mennyiségű pepszint választhatunk le. A csapadékot keményített szűrőpapíron összegyűjtjük, azután dializáló hólyagba helyezzzük, ezt vízbe függesztjük, mire a víz behatol és 24 óra alatt az ammoniumsulfátot és egyéb idegen anyagokat eltávolítja. Most a folyadékot annyi sósavval elegyítjük, hogy 0.02% -ot tartalmazzon és ugyanilyen töménységű sósavat használva a dializáló edény megtöltésére is, a dialízist közel 0° -on folytatjuk. A kiválot pepszincsapadékot most éppen úgy tisztítjuk, mint azt előbb irtam le. A készítmény tisztasági foka és hatása teljesen megegyezik az előbbivel.

A pepszin kimutatása és mennyiségének meghatározása.

Sok módszer ismeretes a pepszin kimutatására, ezek közül csak azokat említem, a melyek legjobban beváltak és gyors, de biztos eredményhez juttatnak.

A fibrinpróba. Kiviteléhez szükséges mindig marhavérből származó fibrint készletben tartani. Ezt úgy állítjuk elő, hogy marhavéralvadékot folyton megújuló vízben addig mosunk, míg a vér színe teljesen eltűnik. Most az alvadékot körülbelül borsónagyságú darabokra aprítjuk szét és glicerinen tartjuk el. Közvetlen használat előtt vízben két darabkát mosunk ki, melyet egy-egy kémcsőbe teszünk. Az egyik kémcsőbe most a vizsgálandó enzim oldatát öntjük s hozzá annyi híg sósavat csepegtetünk, hogy az oldat a kongópapírost határozottan kékszínűre fesse, miközben az oldat a sósavra nézve körülbelül $1/30$ normál lesz; a másik kémcsőbe ugyanannyi sósavat és vizet öntünk, enzimoldat nélkül. Néhány órai 37° -on való állás után pepszin jelenlétében a fibrin teljesen feloldódik, míg az ellenőrző próba fibrinje legfeljebb megduzzadt. Kanitz kezdeményezésére a fibrint karminnal meg szokás festeni,

mikor is a hatás rendkívül szembeötlő, mert a fibrin feloldásával a karmin is feloldódik, minek következtében az elegy szüredéke rövid időn belül rózsaszínűvé lesz.

A *zselatinpróba*. Készítünk 10%-os vizes zselatinoldatot, s azon melegen apró kémcsövekbe öntjük, úgy hogy a folyadékoszlop magassága a cső magasságának egy harmadáig érjen. A folyadék megalvadása után a vizsgálandó folyadékot annyi sósav jelenlétében, mint azt a fibrinpróbánál említettem és az ellenőrző oldatot egy-egy kémcsőbe a zselatinra rétegezzük és néhány óra hosszat, vagy másnapig szobahőmérsékleten hagyjuk állani. 22°-nál magasabb hőmérsékletnek nem szabad a próbákat kitenni, mert különben a zselatin megolvad. A szükséges idő letelte után a pepszintartalmú kémcsőben a zselatin részben, vagy teljesen feloldódott.

A *Jacoby-féle ricinpróba*.¹ Az előbb leírt módszereknel sokkal érzékenyebb, biztosabb és gyorsabban kivihető eljárás azon alapszik, hogy a ricinusmagból előállítható proteinkészítmény nehezen oldható olyan savmennység jelenlétében, mely éppen a pepszin hatására legelőnyösebb. A protein ilyenkor rendkívül finom pelyhek alakjában válik ki, s a pepszin oldó hatása arról ismerhető fel, hogy az eredetileg opálizáló folyadék felderül. A kísérlethez szükséges „*Jacoby-féle ricin*“, melyet a charlottenburgi „Chemische Werke auf Aktien“ gyára állít elő, csak névrokona annak ricin nevű toxinnak, melyet szintén a ricinusmagból állítanak elő, de melyben protein úgyszólván alig van. A vizsgálatához szükséges folyadékot úgy készítjük, hogy a *Jacoby-féle ricin*ből 2 g.-ot 50 cm³ 3%-os konyhasóoldattal körülbelül 1 perczig rázunk, egy óra hosszat 40°-os vízfürdőben melegítjük, azután megsűrítjük. Az átlátszó szüredéket $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ térfogatnyi $\frac{1}{10}$ normális sósavval elegyítjük, mire zavarodás, majd finom pelyhek kiválása következik be. A sósavat apró részletekben adagoljuk, a míg erős zavarodás mutatkozik és óvakodjunk a sav feleslegétől, mert a keletkező csapadék ismét föloldódik. Az így készített kémszer néhány napig is eláll. Vizsgálatkor a pepszintartalmú folyadékból körülbelül 1 cm³-t a jól összerázott kémszernek 5 cm³-rével elegyítjük. Már közönséges hőmérsékleten, még hamarabb 37°-on nemsokára teljesen átlátszóvá lesz az előbb zavaros folyadék. Az ellenőrző próba zavarodását mindvégig megtartja, ha csak a keverékbe kelleténél sokkal több sósavat nem öntöttünk.

Az eljárás a pepszin mennyiségének kimutatására is alkalmas. E célból az ismeretlen pepszinoldatunkat ismert pepszintartalmú oldattal hasonlítjuk össze. Nem szabad elfelejteni, hogy mindenképpen csak viszonylagos értékekre számíthatunk, mert az enzim abszolút

¹ M. J a c o b y. Biochem. Zeitschr. 1, 53 (1906). E. S o l m s Zeitschr. f. klin. Med. 64, 159 (1907.)

menntiségét éppen azért, mert más anyagokkal szennyezett készítményekkel dolgozunk, nem ismerhetjük. Az összehasonlító oldatot úgy készítjük, hogy 0.2 g. kereskedésbeli pepszint 200 cm³ vízben oldunk és kiprobáljuk, hogy 30 percz alatt, 38°-on, a ricinfolyadékából 5 cm³-t hány cm³ pepszinoldat derít meg tökéletesen. E végett változó mennyiségű pepszinoldatot elegyítünk 5—5 cm³ ricinfolyadékhoz és megfigyeljük, melyik csőben áll be a tökéletes derülés éppen 30 percz alatt. Vegyünk egy adott esetet. Öntsünk a pepszinoldatból: 1.7; 1.8; 1.9; 2.0; 2.1; 2.2 cm³-t 5—5 cm³ ricinfolyadékhoz. A termosztátban eltelt fél óra múlva azt tapasztaljuk, hogy 2.0 cm³ pepszinoldatot tartalmazó folyadék teljesen átlátszó, míg az 1.9 cm³-t tartalmazó még zavaros. A 2.0 cm³ pepszinoldatot tartalmazó próba lesz tehát az összehasonlító próba, melyről tudjuk, hogy 5 cm³-nyi ricinoldat teljes felderítésére képes.

Most elkészítjük az ismeretlen pepszinoldatból a kísérletsorozatot. E célból megtöltünk 10 kémcsövet 2—2 cm³ vízzel és a vizsgálandó pepszinoldatból pontosan 2 cm³-t kipipettázva, belekeverjük az első kémcsőbe. A cső tartalmát a pipettával felszívva és visszafújva, tökéletesen összekeverjük, majd belőle 2 cm³-t megint kipipettázva, azt a második csőbe keverjük és az előbbi műveletet megismételve, a harmadik próbát készítjük el, mindig ugyanazon elv szerint. Ezzel azt érjük el, hogy az oldatok egyenlő térfogat mellett a pepszinoldatból olyan mennyiségeket tartalmaznak, melyeket az

$$1, \frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}, \frac{1}{16}, \frac{1}{32} \text{ stb.}$$

sorral lehet kifejezni.

Most minden próbába 5 cm³ ricinoldatot elegyítvén és a csöveket $\frac{1}{2}$ órára 38°-os termosztátba helyezvén, 30 percz múlva megfigyeljük, melyik próbában derült fel teljesen a ricinfolyadék. Ennek a próbának pepszintartalma egyenlő az összehasonlításra előkészített próbának enzimtartalmával.

Tegyük fel, hogy a mi esetünkben a második próba csak egész halvány zavarodást mutat, a harmadik pedig teljesen átlátszó. Ha még pontosabban kívánjuk megtudni, hogy oldatunkból mennyi deríti fel éppen fél óra alatt az 5 cm³-nyi ricinfolyadékot, akkor olyan új sorozat szerint készítünk próbákat, melyekben az enzimmenntiség az előző próbához képest kevésbbé gyorsan csökken, pl.:

$$1, \frac{2}{3}, \frac{4}{9}, \frac{8}{27}, \frac{16}{81} \text{ stb.}$$

Ha még élesebb határokat akarunk kitzüni, akkor az

$$1, \frac{3}{4}, \frac{9}{16}, \frac{27}{64} \text{ stb.}$$

sorozat szerint végezzük az enzimoldat adagolását.

Ezeket a törteket, tizedes törtekben fejezzük ki és az enzimoldatot cm³-ben olyan arányban osztogatjuk el a kémcsövekben, mint a hogy

a számok csökkennek. A legutóbb említett sorozattal egyenlő értékű enzimoldat-mennyiségek:

1; 0·75; 0·56; 0·42; 0·32 stb.

Ügyelni kell főleg arra, hogy az összehasonlítandó folyadékok térfogata és sósavkoncentrációja valamennyi próbában ugyanaz legyen

Tojásfehérjeszuszpenziós eljárás. A proteolitos hatás megmérése alkalmas a Hata¹ ajánlotta módszer is, mely a ricinmódszernél még kissé érzékenyebb. Itt tojásfehérje szuszpenzió az alapanyag, mely hidrolízis után teljesen átlátszó oldatot létesít. A szuszpenzió úgy készül, hogy tojásfehérjét kis részletekben hozzáadagolt vízzel nagy csészében eldörzsölünk, úgy, hogy a keverékben körülbelül ötszörös víz legyen. A tömeget gázszóval betömött tölcséren megsűrjük, 60°-os vízfürdőben 20 perczig melegítjük és ismét megsűrjük. Az így létesített folyadék fehér, egynemű, zavaros fehérje szuszpenzió, mely chloroform jelenlétében jégsekreányban hónapokig változatlan. Használat előtt kilencszeres mennyiségű vízzel hígítjuk. Célyszerű egyszerre nagyobb mennyiségű szuszpenziót készíteni, hogy a tojásfehérjének időszakok és származás szerint változó érzékenységet kiküszöböljük. Ha a szuszpenziót vákuumban besűrítjük, teljesen megsűrítjük és a maradékot eldörzsölés után folytonos keverés közben annyi vízben szuszpendáljuk, a mennyi az eredeti szuszpenzióban volt, az új folyadék érzékenysége éppen akkora, mint eredetileg volt. Ezt a következő kísérlet mutatja: 38° hőmérsékleten.

Pepszinmennyiség g.	Friss szuszpenzió 1 : 50 2 cm ³	A beszártított fehérjeporból készült szuszpenzió 1 : 50 2 cm ³
0·0001	++++	++++
0·00007	+++	+++
0·00005	++	++
0·00003	+	+
0·00002	+	+
0·000015	+	+
0·00001	—	—
0·000007	—	—

++++ = a szuszpenzió 15 percz mulva lesz teljesen átlátszóvá; +++ = a szuszpenzió 30 percz mulva; ++ = 45 percz mulva; + = 1 óra mulva lesz teljesen átlátszóvá. — = a szuszpenzió 1 óra mulva is zavaros marad.

¹ Hata S. Biochemische Zeitschrift 23, 179—185 (1910.)

A tojásfehérjeszuspenziót használva alapanyagul, a pepszin mennyiségi meghatározása éppen úgy történik, mint azt a ricinmódszernél láttuk. Itt is az összes próbáknál egyenlő mennyiségű sósavat alkalmazunk.

A *Fuld- és Levison-féle edesztinmódszer*¹ igen jó eredményt szolgáltat. Kristályos edesztinből 1 : 1000-hez oldatot készítünk felfőzés útján. Oldószerül $\frac{1}{300}$ normál sósav szolgál. Ilyenkor az edesztin ú. n. edesztánná alakul, mely az edesztintől abban különbözik, hogy oldhatóságát sóoldatokban teljesen elvesztette.

A vizsgálandó pepszinoldatot felhígítjuk és lefelé haladó geometriai sorrendben különböző mennyiségű, de egyforma térfogatú próbákat teszünk belőle egyforma nagyságú és körülbelül 1 cm. átmérőjű kémcsövekbe. A csöveknek ez a mérete azért előnyös, mert ezekben a folyadék később az ammonia hozzáöntése alkalmával nem keveredik gyorsan, s azért az érintkezési felületen megjelenő oldhatatlan edesztán könnyebben észrevehető. A pepszinoldatpróbákhoz most gyorsan egyenlő mennyiségű edesztinoldatot keverünk pl. 2 cm³-t és a próbákat $\frac{1}{2}$ óra hosszat 37°-on tartjuk. Most a legtöbb pepszint tartalmazó próbánál kezdve mindegyik csőbe a folyadék fölé egyenlő mennyiségű ammoniát rétegezzünk, majd ráeső fényben feketepapiros alapon megfigyeljük azt a próbát, melyben az edesztin éppen teljesen meg van emészelve, vagyis a fehér gyűrű nincs már meg és kiszámítjuk a rendelkezésünkre álló adatok alapján pepszintartalmát. Például szolgáljon a következő kísérlet:

Pepszinoldat 1 : 20-hoz hígítva	Edesztin oldat	Ammoniával elegyítés után
1 cm ³	2 cm ³	alig látható gyűrű
0·64 cm ³	2 cm ³	alig látható gyűrű
0·40 cm ³	2 cm ³	nagyon gyenge gyűrű
0·25 cm ³	2 cm ³	tisztán kivehető gyűrű
0·16 cm ³	2 cm ³	erős gyűrű
0·1 cm ³	2 cm ³	erős gyűrű

A dült betűkkel szedett próba eredményét fogadjuk el tehát végérvényesnek, mert a gyűrű nyoma az ammoniás próba túlságos érzékenysége-nél fogva teljesen nem tűnik el. Kiszámítjuk, hogy 1·0 cm³ pepszinoldat hány cm³ edesztinoldatot bír megemészteni 30 percz alatt, ha 0·40 cm³ éppen 2 cm³-t hidrolizál. Azt találjuk, hogy 1 cm. pepszinoldat 5 cm³ edesztin-

¹ Fuld E. és Levison L. A. Biochemische Zeitschrift 6, 473 (1907); Reicher K. Wiener klinische Wochenschrift 20, 1508—1510 (1907.)

oldatot bont el; minthogy azonban enzimoldatunkat e kísérlet elején húszszorosan hígítottuk az edesztinoldat cm^3 számát 20-al kell megszoroznunk. Az eredmény tehát 100 lesz. Az eredeti pepszinoldat tehát 100 cm^3 edesztinoldatban levő edesztint hidrolizál $\frac{1}{2}$ óra alatt, vagy más szóval a pepszinoldat 100 egység erősségű.

A pepszin sajátosságai.

A pepszin egyike a legtisztábban előállítható enzimkészítményeknek, természetes tehát, hogy fizikai és chemiai sajátosságait nagy buzgalommal tanulmányozták.

Az eddig legtisztább pepszinkészítmény fehér, vagy kissé sárgás, alak-talan por. Vízen, hígított savakban és glicerinen könnyen oldódik, az oldatokból alkohol kiválasztja. A Pekelharing-féle készítmények egymásközt jól egyező elemzéseik középértékben a következő eredményt adták: $\text{C} = 52\%$; $\text{H} = 7\%$; $\text{N} = 14.3\%$; $\text{S} = 1.65\%$. Savanyú gyomornedv melegítésekor olyan anyag kiválása indul meg, mely ezzel a termékkel valószínűleg azonos. Ez sósavas hidrolízis közben pentózt, purinbázisokat és az ú. n. pepszinsavat adja, mely forró alkoholban könnyen, vízben nehezen oldható, kevesebb szén- és kén-t tartalmaz, mint az alapanyag és adja a fehérjereakciót. Csontszén, kollodium, agar-agar, téglapor, cholesterin, calciumphosphat, magnéziumcarbonát, zsírkő, alumíniumoxid, kaolin, részben pedig bismuthsubnitrát és báryumsulfid is abszorbeálja. Különösen savanyú oldatokból a fibrin is nagyon könnyen abszorbeálja a pepszint, míg szódaoldatból azonban nem. Viszont híg szódaoldattal, valamint sósavval a pepszinnel itatott fibrinből ki lehet az enzimet lúgozni. Felfőzött pepszinoldatokkal szemben a fibrin már hatástalan.

Iscovesco vizsgálatai szerint a pepszin pozitív kolloid, Löb szerint gyenge bázis, melyben csak a pepszinkationnak van enzimszerepe; Michaelis és Ehrenreich viszont azt látják bebizonyítottak, hogy a pepszinnek savjellege van. Elektromos áram hatására a negatív sarokhoz vándorol. Sav jelenlétében ellentétes elektromos töltést kap. Michaelis vizsgálatai szerint közömbös és savanyú oldatban is a pepszin mindig az anód felé vándorol. Pergamentpapirosra keresztül lassan diffundál. Phenolphthaleinnel szemben közömbös oldatban úgyis szólván akadálytalanul hatol át agyagszűrőn, methylorange-val szemben közömbös környezetben a megszárt oldat azonban alig hatásos. A mint az ilyen oldatot semleges sóval, vagy 2% -es sósavval elegyítjük, csaknem veszteség nélkül szűrhető a pepszin.

A pepszin hidrolizálja a kazeint, globint, kollagén, glutint, chondrogén, chondrint, elastint, a nukleoproteideket, az oxyhaemoglobint stb. Hatástalan az ovomukoiddal, mucinnal, sponginna, keratinnal, con-

chiolinnal és a protaminokkal szemben. A kötőszövetek mukoidját nagyon lassan emésztí meg és körülbelül 10% maradékot hagy hátra, melyet hidrolizálni nem bír, s melyben sok glükothionsav¹ fordul elő.

A hidrolízis termékei között proteózek, peptonok, talán némelykor ammonia és némely biuret anyag is előfordul, aminosavak azonban sohasem. A különböző proteineket változó gyorsasággal emésztí meg a pepszin, a sorrend azonban, melyben a műveletet végzi, változó még ugyanazon proteinnél is és főképpen annak duzzadtsági állapotától, továbbá az iónkoncentrációtól függ.

Ez az oka annak, hogy a sorrend, melyet a szerzők a különféle proteineknél pepszin hatására beálló hidrolízisének sebességére nézve megállapítottak, nagyon csekély értékű.

A pepszin számos más enzimet működésében megakaszt. Ez a hatás legtöbbször a pepszint kísérő sósavnak tudható be. A precipitíneket továbbá több precipitogén anyagot, bizonyos toxinokat, például a ricint, tönkreteszí. Valamennyi polypeptid ellentáll a pepszin hatásának.

Ha a pepszin oldatát hosszabb ideig rázzuk, hatását veszti.

A pepszin működésének legfontosabb feltétele, hogy a közeg kémhatása savanyú legyen. E célra nem minden sav egyformán alkalmas, s a különféle savnak változó mennyisége idézi elő ugyanazt az eredményt. Különböző szerzők megállapították a savnak azt a sorrendjét, mely szerint a pepszin hatását elősegítik; ez a sorrend azonban egyelőre nem végleges, mert a szerzők adatai meglehetősen eltérnek egymástól. Az bizonyos, hogy a sósav és a tejsav nagyon kedvezők a pepszines hidrolízisre, ellenben az ecetsav nem jótékony hatású. A sósavnak legkedvezőbb koncentrációja 0.2—0.1%, azonban még jóval ez alatt is működik, sőt Zunz olyan di-nátriumhidrophosphat-oldatban, mely lakmuszszal szemben már lúgos, phenolphtaleinnel szemben még gyengén savanyú volt a serumalbuminnak észrevehető emésztését figyelte meg.

A czápák gyomornedvének pepszinje 1.2—2.2% sósav jelenlétében is működik, s az optimális koncentráció 0.5—1% sósav között van. A pepszines hidrolízis folyamán a szabad sósav mennyisége folyton fogy és mire a reakciókeverék sósavat már nem tartalmaz, a hidrolízis is megszűnik. A jelenség szabatos magyarázata még ismeretlen, legközelebbi feltevés azonban az, hogy a hidrolízis közben keletkező polypeptidkeverékek, a peptonok és albumózek kötik meg a szabad sósavat s minthogy a pepszin csak szabad sósav jelenlétében működik, hatásaönként megszűnik.

Szabad alkálifémhydroxidokkal szemben a pepszin rendkívül érzékeny. Megalvasztott proteineknél jelenléte a káros hatást bizonyos mértékben

¹ A glükothionsav ismeretlen összetételű nitrogén és kén tartalmú anyag, mely se a biuret, se egyéb proteinreakciót nem mutat. Savakkal hidrolizálva a Fehling-féle oldatot redukálja.

késlelteti. A tripszin gyengén lúgos oldatban meggyorsítja a pepszin tönkremenését.

A pepszin működésének, a hőmérsékleti optimuma 45—50° körül van, 55° felett a hidrolízis lassúbb, 65° körül pedig teljesen megszűnik. A működés felsőbb határa azonban, mint a többi enzim esetében, a pepszinnél is nagyon változik a jelenlévő anyagok szerint. A sósav, különböző sók és peptonok védik a pepszint a magas hőmérséklet káros hatása ellen. Száraz állapotban a 100°-os hőmérsékletet is kiállja, lehűtve pedig a folyós levegő hőmérséklete sem árt neki.

A pepszinnek működését megakasztó anyagokat már többször észleltek; ezek talán antipepszinek voltak.

Ilyen antipepszint Sachs úgy létesített, hogy libákat pepszinnel szemben immunissá tett. Az állatok vére határozott antipepszines hatásúvá változott. A normális körülmények között állítólag megjelenő antipepszinekről azonban nagyon keveset tudunk. A vérsavóban is volna antipepszin. Jelenléte a gyomor nyálkahártyájában különös fontosságú volna, a mennyiben megakadályozná a gyomor falának önmérsztését. Klüg Nándor ezzel szemben arra az álláspontra helyezkedik, hogy a gyomor-falát belepő nyálkaréteg, melynek ellenállása a pepszinnel szemben roppant nagy, áll útjában az önmérsztésnek. Az antipepszin tulajdonságairól vajmi keveset tudunk. A kutatók szerint sósavval kioldható s a főzést álló, diffundáló és alkohollal kicsapható anyag, mely lúgoknak jobban ellentáll, mint a pepszin, az oldat hígításakor azonban gyorsabban elveszíti hatását. Minthogy a főzésnek ellentáll, következik, hogy antianyag nincs jelen s inkább negatív katalizátorra lehet gondolni.

A pepszines hidrolízis reakciósebessége gyakran volt tanulmány tárgya. Schütz, a ki legelőször foglalkozott e kérdéssel, a reakció folyamán feloldott peptonok forgatótehetségének meghatározása útján azt az összefüggést találta, hogy a hidrolízis sebessége egyenlő időtartamok lefolyása után a pepszin koncentrációnégyzetgyökével arányos:

$$X = K \sqrt{E}$$

A képletben X az átalakult protein mennyiségét, E az enzim koncentrációját jelenti, K pedig állandó. Az összefüggést megvilágítja a következő kísérlet sor:

A pepszin mennyisége	A peptonok forgatótehetségének középértéke perczenben	
	észlelés	számítás
1	7·3	7·4
2	9·7	10·4
3	12·8	12·7
4	14·8	14·7
5	16·5	16·4
6	18·4	18·9

Sjöquist, a ki a protein pepszines hidrolizisét a reakciókeverék elektromos vezetőhetségének mérése útján követte a Schütz-féle szabályt, t kicsiny értékeire nézve szintén érvényesnek találta, ellenben sokkal általánosabb érvényességűnek mutatkozott az az összefüggés, mely szerint az átalakult anyag mennyisége a pepszinkonzentráció és az idő szorzatának négyzetgyökével arányos:

$$X = K \sqrt{E \cdot t}$$

a hol t az időt jelenti. A Schütz-féle szabály Meyer Kurt vizsgálataiból is következik, míg Gross azt találta, hogy a megemésztett protein mennyisége az emésztési idővel fordítva arányos.

Még számosan foglalkoztak a pepszines hidrolizis reakciósebségének meghatározásával. Ezek a vizsgálatok azonban éppen úgy, mint az eddig tárgyaltak, nem nagyon értékesek, mert egy fontos tényezővel, a közeg iónkoncentrációnak pontos ismeretével nem számoltak. Pedig a mint azt Sørensen gondos kísérletei alapján tudjuk, ez a tényező nagyon lényeges hatással van a reakció lefolyására, mint azt a következő táblázat mutatja. Sørensen a még nem hidrolizált proteint a reakciókeverékből stannochloriddal, illetve csersavval csapta ki.

Hidrogén- iónkoncen- tráció		A stannochloriddal kicsapott protein eltávolítása után a szüredék nitrogéntartalma mg.-ban t óra után							
pH ¹	Koncen- tráció ²	$t = 1/2$	1	2	4	8	13	20	49
0.76	$1.7 \cdot 10^{-1}$	6.04	8.50	13.24	19.34	22.80	25.60	—	—
0.99	$1.0 \cdot 10^{-1}$	6.62	9.32	14.34	21.02	24.10	25.72	28.42	30.28
1.22	$6 \cdot 10^{-2}$	9.04	12.26	17.74	—	27.50	27.74	28.80	31.32
1.63	$2 \cdot 10^{-2}$	11.00	15.24	18.70	24.76	27.86	28.45	28.94	30.92
2.26	$5 \cdot 10^{-3}$	10.82	15.00	17.50	22.06	25.14	26.42	27.08	28.08
2.09	$8 \cdot 10^{-5}$	7.84	10.80	12.42	13.30	—	13.58	—	16.12

Hidrogén- iónkoncen- tráció		A csersavval kicsapott protein eltávolítása után kapott szüredék nitrogéntartalma mg.-ban t óra után					
pH ¹	Koncen- tráció ²	$t = 1 1/2$	3	6	12	24	48
0.76	$1.7 \cdot 10^{-1}$	3.82	6.02	9.25	12.38	15.16	—
0.99	$1.0 \cdot 10^{-1}$	4.22	6.60	9.58	13.22	15.46	18.26
1.22	$6 \cdot 10^{-2}$	5.08	7.46	10.46	13.92	16.22	18.94
1.63	$2 \cdot 10^{-2}$	5.06	7.32	10.22	13.38	15.86	18.66
2.26	$5 \cdot 10^{-3}$	5.44	6.20	8.86	11.64	14.62	17.32
2.09	$8 \cdot 10^{-5}$	0.94	1.48	2.52	3.86	5.62	8.04

¹ A Sørensen-féle jelzés, magyarázatát lásd a 33. lapon.

² Az iónkoncentráció rendes jelzése.

Pepszinogén (propepszin).

Már régóta tudták a kutatók, hogy a gyomormirigyek tartalma és váladéka nem a pepszin maga, hanem olyan zimogén, mely csak utólag alakul át pepszinné. Ebstein és Grützner,¹ később mások is glicerinnel oldták ki a gyomor nyálkahártyáját és azt találták, hogy az ilyen oldatok sohasem olyan hatásosak, mint a híg sósavval készített oldatok. A pepszin maga pedig könnyen oldódik glicerinnel. A jelenség magyarázata éppen abban rejlik, hogy a mirigyek váladéka, a glicerinnel nehezen oldható propepszin csak a hígított sósav hatására lesz pepszinné. Langley² szigorúan bebizonyította, hogy a pepszin valóban a propepszin zimogénből ered és hogy az átalakulás hígított savak hatására könnyen végbemegy. Langley később Edkins-sel együtt a pepszin és propepszin elválasztására módszert is dolgozott ki, mely azon alapszik, hogy a pepszin 0.5—1%-os szódaoldat hatására hamar tönkremegy, míg a propepszin nagyobb változást nem szenved.

A pepszinogént később Glaessner³ állította elő meglehetősen tisztán és tulajdonságait gondosan tanulmányozta. Eljárását és fontosabb kísérleteinek eredményeit röviden ismertetem:

Sertésgyomrokat gondosan megtisztítunk a reájuk tapadó nyálkától és ételmaradékoktól, majd az alaprésznek nyálkahártyáit az izomrétegről lekaparjuk, néhány óra hosszat áramló vízben mossuk, majd húsvágó gépen apróra vagdalmazzuk. A tömeget súlyának kétszeres mennyiségével egyenlő vízzel keverjük fel, nátriumcarbonáttal gyengén lúgossá tesszük s toluol jelenlétében 40°-on hagyjuk 3—4 hétig állni, miközben időnként a tömeget összerázzuk. E közben autolízis megy végbe a nyálkahártyákban, minek következtében pepszinogén és prochymosin jut a folyadékba nagymennyiségű idegen anyag kíséretében, az eredetileg jelenlévő pepszin és chymosin pedig tönkrement. A lúgos szüredékhez most annyi konyhasót elegyítünk, hogy a folyadékban belőle 1% legyen, majd pedig híg ecetsavat elegyítünk hozzá, a míg a főleg mucinból álló propepszintől mentes csapadék teljesen levállott. A szüredékhez, melyet nátriumcarbonáttal pontosan közömbösítettünk, uranylacetátoldatot csepegtetünk, mire terjedelmes csapadék válik le, mely a propepszint és a prochymosint tartalmazza, míg a folyadékban a proenzimeknek csak nyomát lehet kimutatni. A csapadékot centrifugálás útján elkülönítjük és nátriumcarbonátos vízzel oldjuk ki. Az oldatokat újra uranylacetáttal

¹ Ebstein és Grützner: Pflügers Archiv, 16, 105, Chapoteau C. r. 94, 1722 (1882); Podwisrotzki: Pflügers Archiv, 39, 62.

² Langley: Journal of Physiology, 3, 269 (1881); Langley és Edkins: Journal of Physiology, 7, 371 (1886).

³ Glaessner K.: Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, 1, 1—23 (1901/02).

elegyítjük; a csapadékokat híg nátriumcarbonátoldattal vonjuk ki, mire víztiszta szüredéket kapunk, mely vákuumban besűrítés után a proteinreakciót már nem adja. Hátra van még a folyadékban közösen előforduló két proenzimnek elválasztása. Ezt tökéletesen nem tudjuk még elvégezni, de kaphatunk két olyan részletet, mely az egyik, vagy a másik proenzimet tartalmazza túlnyomó mennyiségben. E végett a folyadékot gyors egymásutánban uranylacetát és nátriumphosphát egyenértékű mennyiségeivel elegyítjük, mire a keletkező csapadék főképpen a propepszint ragadja magával, a szüredékben pedig főképpen a prochymosin marad. A csapadékból nátriumcarbonátos vízzel hatásos pepszinogénoldathoz jutunk.

A pepszinogénoldat hígított sósav hatására gyorsan pepszinné alakul. Gyengén lúgos közegben 60—70°-ra felmelegítve tönkremegy, míg a lehűtéssel szemben nagyon ellentáll. Kovaföld, báryumsulfát, finom porrá zúzott márvány, vérszén, a pepszinogént oldatából adszorbeálja. Ugyanez történik akkor is, ha cserebomlás útján pepszinogéntartalmú oldatban báryumsulfát-, calciumsulfát- vagy calciumphosphát-csapadékokat idézünk elő. Jellemző, hogy a fibrin a pepszinogént is olyan mohón adszorbeálja a folyadékból, akárcsak a pepszin. A pepszinogén állati hártján nem hatol keresztül; hosszú ideig tartó dialízis következtében azonban elveszti hatásosságát. Szabad alkálifémhidroxidok és ammonia jelenléte már csekély mennyiségben is káros, nátriumcarbonát lassabban hat, de 0.5—1.0% már szintén megakasztja a pepszinogén működését. A pepszinogén legkedvezőbb alakul pepszinné a sósav hatására, azután következik a salétromsav, kénsav, phosphorsav, végül az ecetsav és tejsav.

Alkohol a propepszint nagyon híg oldatban is tönkreteszi, mercurichloridból 0.1%, phenolból 1% szükséges ahhoz, hogy a pepszinné alakulás megakadjon.

A tripszin gyengíti ugyan a pepszinogént, de nem teszi tönkre, az epe váladéka azonban káros a pepszinogénre.

A gyomornedv fontos szerepét az emésztésre először Borelli, azután Réaumur (1752) vették észre. Spallanzani (1752) volt az első, aki a gyomornedvnek proteinek emésztő hatását kémcsőben is bemutatta, Prout, Tiedemann és Gmelin pedig a gyomorban levő sósav jelenlétét bizonyították be. A *pepszin* nevet Schwann használta először a gyomornedv proteolites enzimére alkalmazva.

Tripszin.

Jellemzés. A tripszin a változatlan proteinek polypeptidhalmazokra, ezeket pedig részben aminosavakra bontja.

Előfordulás és képződés.

Előfordul valószínűleg mint zimogén az élesztőben. Némely gomba: *Penicillium*, *Fuligo septica*, *F. varians*, továbbá némely baktérium tartalmaz triptázt. Legfontosabb előfordulása a tripszinnek a gerincesek hasnyálmirigyvádékában van, hol a tripszin mint zimogén jelenik meg. Némely hal emésztőnedvében is megtalálták. A zimogén, melyet tripszinogénnek neveznek, a bélnedvben található, talán enzimtermészetű anyag hatására alakul át tripszinné. Ennek az anyagnak neve *enterokináz*.

A hasnyálmirigy elválasztó működésének megindítását egy különleges anyagnak tudják be, melynek sajátságait alig ismerjük, de mely a mostani fogalmaink szerint nem lehet enzim, a mennyiben tetszés szerinti kémhatású közegben állja a forralás hőmérsékletét. Ezt az anyagot, mely a bél felső részletének hámsajtjeiben keletkezik, Baylis és Starling *sekrelin*-nek nevezte el. Alkotórészei között a cholint is megtalálták, melyről bebizonyosodott, hogy a hasnyálmirigy működését élénkíti. Mint-hogy azonban cholinnal magával olyan erős hatást elérni nem lehet, mint a sekrelinnel, fel kell tennünk, hogy cholin mellett még egyéb fontos anyagnak kell résztvennie a sekrelin felépítésében. A sekrelinnek keletkezése savak jelenlétéhez van kötve. A sekrelinhez tulajdonságaikban hasonló anyagok képződnek a bél nyálkahártyájában chloralhydrát, szappanoldat és alkohol hatására is. Valamennyi megegyezik abban, hogy a hasnyálmirigyet tripszinogéntartalmú nedv kiválasztására bírja.

Sekrelinoldat előállítására céljából kutyát 24 órai éheztetés után carotisainak felmetszése útján megölünk, vékonybelének duodenum és jejunumnak nevezett részletét vízsugárral kívül-belül leöblítjük, majd 8—10 cm. hosszú darabokra vágjuk, melyeket felhasításuk után mozsárban tiszta homokkal és alkohollal eldörzsölünk, a tömeget Soxhlet-féle készülékben többször alkohollal kifőzzük. A maradékot 0.4%-os sósavval elegyítve, félórai állás után felfőzzük. Forrás közben cseppenként nátriumhydroxidot elegyítünk hozzá, a míg a tömeg kémhatása gyengén lúgos lesz. Most csekély mennyiségű ecetsavval kicsapjuk a nukleoalbuminokat és 10—15 percnyi forralás után a tömeget előbb kendőn, majd papirosra kerestüliszűrjük. A szűrést annyiszor ismételjük, a míg teljesen átlátszó oldatot kapunk. Ha ezt az oldatot kutya viszerébe fecskendezzük, hatástalan, tripszinogéntartalmú hasnyálmirigyvádékhoz jutunk.

A tripszin előállítása.

Ha a tripszin valódi sajátságait akarjuk tanulmányozni, tiszta hasnyálmirigyvádékkal kell dolgoznunk, mely a triptáz zimogénjét tartalmazza. Csak ennek használatával vannak elhárítva azok a mellékes hatások, melyek különösen akkor zavarnak, ha a hasnyálmirigy vonadékából

létesített készítményekkel dolgozunk. Ilyenkor ugyanis egyéb autolitos és proteolytos enzyimmel szennyezett oldatokat kapunk, melyek a valódi tripszinhatásokat részben elfedik.

A tiszta hasnyálmirigyváladék előállítása ugyan meglehetősen egyszerű, végrehajtása azonban mégis az orvos segítségét igényli, mert a chemikus ilyen munkában legtöbbször nem járatos. Ezért feleslegesnek is tartom itt leírni, hogy a tripszinogéntartalmú váladékot kutya operációjának segítségével miként lehet előállítani, hanem utalok *Abderhalden*¹ munkájára, melyben a részletek is közölve vannak. Csak felhívom a figyelmet arra, hogy a szekretinbefecskendezés izgatására kapott váladék első részletében rendesen proteolites enzimek vannak, miért is az első 10—15 cm³-nyi folyadékot elöntjük, s csak a további részleteket gyűjtjük steril centrifugacsövekbe és centrifugálás után a tiszta oldatot toluol vagy kámfor jelenlétében, jégszekrényben tarjuk el.

A hatástalan hasnyálmirigynedvet hatásossá úgy tehetjük, hogy bélnedvet vagy 0.5% nátriumcarbonátot tartalmazó enterokinázoldatot elegyítünk hozzá. Az enterokinázból félesége szerint hol több, hol kevesebb szükséges az optimális hatás előidézésére. Ezen a határon felül az enterokináz, illetve bélnedv feleslege káros. *Pavlov* szerint legkedvezőbb a bélnedvnek 5%-nyi jelenléte. 37°-on az aktiválás gyorsabb, mint 20°-on.

A hasnyálmirigy nedvét calciumsókkal aktiválhatjuk. Legtöbbször kétszer normális calciumsó oldatából 0.2—0.3 cm³ elégséges, hogy 2 cm³ hasnyálmirigynedvet hatásossá tegyen. Más fémek és aminosavak is közvetlen vagy közvetve hasonló hatást létesítenek, a calciumsók azonban egész különlegesen megindítják a tripszin keletkezését.

Bizonyos körülmények között a hasnyálmirigy váladéka már gyűjtésekor hatásos. Ezeket a feltételeket akkor érjük el, ha a kísérleti állat venájába pilokarpint, Wittepeptont, physostigmint, vagy muskarint fecskendezünk be. 5—10 kg.-os kutyánál kilogrammonként $\frac{1}{2}$ —1 mg. pilokarpinchlorhydrátot, physostigmint vagy muskarint, illetőleg 4 mg. Wittepeptont használunk, melyet fiziológiai konyhasóoldattal hígítunk fel.

A tripszin elkülönítésére irányuló kísérleteknél, sajnos, nem a tiszta hasnyálmirigyváladékból, hanem a hasnyálmirigyből magából indultak ki. A számos eljárás közül, melyeket kidolgoztak,¹ csak egyet közlök, mely az újabbak közé tartozik, s mely *Schwarzschild*-tól ered.

¹ *Abderhalden* E.: Handbuch den biochem. Arbeitsmethoden. III. kötet.

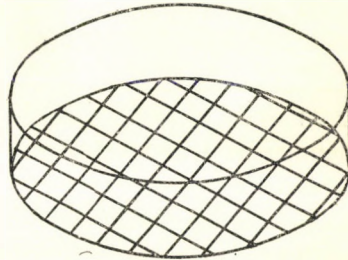
² *W. Kühne*: Über das Trypsin-Enzim des Pankreas. Verhandlungen d. Naturhist. Med. Vereins zu Heidelberg N. F. 1. 194—198 (1876); *M. Jacoby*, Arch. f. exper. pathol. u. Pharmak. 46, 28—40 (1901); *K. Mayr*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 38, 428—512 (1903); *M. Schwarzschild*, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 155—170 (1904).

Tripszintartalmú oldat előállítása.

A marha hasnyálmirigyét húsvágógéppel lehetőleg apróra vagdaljuk össze, majd kevés nátriumhydrocarbonáttal és toluollal gépen egyenletes péppé rázzuk és 5—6 napra a tömeget állni hagyjuk, miközben a hasnyálmirigyben lévő enzimek a hasnyálmirigy szövetét megemésztik. Most a tömeget rongyon, majd papirosra átszűrjük, az oldatból a proteinek uranylacetatoldattal kiválasztjuk s rögtön nátriumphospháttal elegyítjük, hogy az oldat kémhatása lúgos maradjon. A tripszint tartalmazó csapadékot megsűrjük és 0.2%-os szódaoldattal dörzsöljük el, majd 12 óra hosszat a szódaoldattal állni hagyjuk, miközben a tripszin feloldódik. A szüredékben tripszin van.

A tripszin kimutatására és meghatározására szolgáló módszerek.

*A kazeinmódszer.*¹ 0.1 g. Hammarsten-féle kazeint (Kahlbaum-féle készítmény) kevés vízben 10 csepp 10%-os szódaoldat jelenlétében, melegítés közben feloldunk és vízzel 200 cm³-re hígítunk. Az oldatból 5—5 cm³-t a megvizsgálandó enzimoldatból 1 cm³-rel elegyítjük és a próbát 37°-os vízfürdőbe téve el, 5 percenként az elegyből néhány cseppet megvizsgálunk, hogy eczetsavval megsavanyítva, keletkezik-e még belőle kazeincsapadék. Mikor csapadék már nem jelentkezik, arra következtetünk, hogy a jelenlevő tripszin



30. rajz. Petri-csésze.

hatott. A módszer nagyon gyors és érzékeny, főkélléke azonban, hogy a megfelelő, de nem túl nagy mennyiségű eczetsavval végezzük a kémlelést, mert különben a kazein fölös mennyiségű eczetsavban ismét feloldódik. Előzetesen tehát megállapítjuk, hogy a készített kazeinoldatunk próbájához hány csepp 1/4%-os eczetsavat kell elegyíteni, hogy belőle a kazein jól kicsapódjék, s a későbbi kémlelés alkalmával is ugyanennyi eczetsavat használunk. A módszer egyetlen hátránya az, hogy segítségével a proteolites enzim és az erepszin között különbséget nem tehetünk, a mennyiben az erepszin kivételesen éppen a kazeint, bár lassan, de hidrolizálja.

*A Müller és Jochmann-féle vérsavómódszer*² mentes ettől a hátránytól. Petri-féle csészéket, melyeknek a képe a mellékelt rajzban látható, marha, ló, vagy birka vérenek savójával 1/2 cm. magasságban

¹ Gross. Archiv f. exper. Pathol. 58, 157 (1908); E. Fuld Arch. f. exper. Pathol. 58, 468 (1908); L. Michaelis és M. Ehrenreich: Biochemische Zeitschrift 10, 283 (1908.)

² Müller és Jochmann. Münchener med. Wochenschrift. 1906, No. 26.

megtöltünk, majd 70^o-nyi hőmérsékleten, (legjobb thermostátban) addig tartjuk, a míg a tömeg teljesen megmerevedett. Most a vizsgálandó enzimnek közömbös, vagy rendkívül gyengén lúgos oldalával megcseppentjük az előkészített vérsavót és 50^o-nyi hőmérsékleten hagyjuk 24 óra hosszat állni. A magas hőmérséklet meggátolja a baktériumok elszaporodását, míg a tripszin hatása érvényesül. A szükséges idő leteltével gödör jelzi, hogy a tripszin mekkora területen emésztette meg a vérsavót. A próba nem túlságosan érzékeny.

A tripszin kimutatására és mennyiségének meghatározására célszerűen alkalmazhatjuk a pepszinnél leírt H a t a-féle tojásfehérje szuszpenziós módszert is, de természetesen nem savanyú közegben.

Tyrosinpróba. A tripszin gyengén lúgos oldatlan toluol jelenlétében valamennyi proteint, melyben tyrosin szerepel, szabad tyrosin keletkezése közben hidrolizál. Mivel a tyrosint csekély oldhatóságáról, kristályalakjáról és színreakcióiról könnyen felismerhetjük, ez a módszer előnyösen alkalmazható. A peptonos és a később megismerendő peptidpróbáknak csak akkor van bizonyító erejük, ha előzőleg meggyőződünk róla, hogy a vizsgálandó enzim a változatlan proteineket is hidrolizálja. A hatás gyors felismerésére különösen némely pepton nagyon alkalmas. Előnye az, hogy az alapanyag vízben rendkívül könnyen oldható azonkívül nagy mennyiségű tyrosint tartalmaz. Valamennyi között legcélszerűbb a selyempepton használata.

Selyempepton előállítása. Selyemhulladékot 18 óra hosszat 100^o-on szárítunk és belőle körülbelül 1 kg.-ot 5 kg. 70 térfogat százalékos kénsavban oldunk és 25^o-on 4 napig hagyjuk állani. A felmelegedést lehetőleg elkerülve, a folyadékot 10-szeres mennyiségű vízbe keverjük el és a kénsavat a számított mennyiségű finomra őrlött báryumhydroxiddal távolítjuk el. A báryumhydroxidot legcélszerűbb úgy adagolni, hogy e közben a tömeget turbinával lehetőleg gyorsan kavargassuk. 12 órai állás után a báryumszulfátot leszűrjük, még pedig legcélszerűbben nagy porcellánszűrőn, melyen előbb két közönséges szűrőpapíron forró vízben szuszpendált tiszta csontszén szűrünk le. A csontszénrétegen, mely a papírost egyenletesen borítja, a báryumszulfáttól könnyen megtisztíthatjuk az oldatot. A szűrőről levett csapadékot 25^o-os vízzel dörzsöljük el és újra leszívátjuk. Az egyesített szüredékekből tökéletesen kicsapjuk a még jelenlevő kénsavat illetőleg báryumot, s a folyadékot végül keményített szűrőn átszűrve erősen csökkentett nyomás alatt bepárologtatjuk, ügyelve rá, hogy a vízfürdő 40^o-nyi hőmérséklet fölé ne emelkedjék. A besűrítés néha nehézség nélkül sikerül, néha azonban az oldat annyira habzik, hogy az anyagból is állandóan egy rész a gyűjtőedénybe jut. Ilyenkor csakis úgy érhetünk célzt, ha a desztillálólombikba csepegtető tölcseren keresztül bocsátjuk folytonosan a folyadékot és kettősnyakú

lombikot használunk. A mikor a folyadék már erősen be van sűrítve, ismét megvizsgáljuk van-e benne kénsav, vagy bárium. Sokszor még eddig ismeretlen okból a pepton báriumot tart vissza, mely csak akkor mutatható ki, ha egy próbát platinalamezen hamvasztunk el. Legkönnyebben úgy kaphatunk ilyen esetben báryumtól mentes pepton, ha az oldat adott tömegében meghatározzuk a bárium mennyiségét kénsavval való többszöri lepárlás útján, s most a peptonoldatot 60°-ra melegítve a számított mennyiségű kénsavval elegyítjük. A szüredéket tovább sűrítjük vákuumban addig, a míg sűrűn folyó tömeggé alakul, s most vékony sugárban abszolút alkoholba keverjük bele. Ilyenkor a pepton sárgás, vagy teljesen szintelen pelyhekben csapódik ki. Mihelyt észrevesszük, hogy a pepton az alkoholban már cseppek alakjában válik ki, friss alkoholba öntjük a többi peptonszirupot, a mikor ismét pelyhekben válik ki. A pelyheket összegyűjtük és kénsav fölött vákuumban megszárítjuk. A termelés 200—300 g. esetleg több is. Az alkoholos anyalúg bepárolgatása után kapott szirupot ismét alkoholba öntjük, mikor még elég sok és jól használható pepton válik ki.

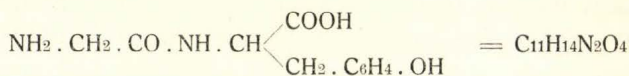
Még tisztább készítményt úgy állítunk elő, hogy a besűrített peptonszirupot methylalkohollal főzzük ki, s a forró methylalkoholos oldatot öntjük vékony sugárban abszolút alkoholba. Ilyenkor hófehérségű és a levegőn nem nedvesedő alakban válik ki a pepton. Különösen optikai célokra még jobban beválik az olyan készítmény, melyet a fent leírt közönséges peptonból phosphorwolfrámsavval választunk ki. E célból a pepton 1%-os vizes oldatát 10%-os phosphorwolfrámsav oldatával elegyítjük. A kivált csapadékot leszűrése és kisajtolása után melegítés és turbinával való keverés közben báriumhydroxiddal elbontjuk, a szüredékből a báriumhydroxidot kénsavval pontosan kicsapjuk és a vákuumban besűrített peptonoldatot ismét alkoholba öntjük, mire teljesen szintelen pelyhek válnak ki. Hasonló tulajdonságú pepton „Roche“ pepton címen a grenzachi (Baden) Hoffmann-La Roche & Cie vegyészeti gyár is hozott forgalomba. A pepton 10—50%-os oldatát alkalmazzuk a kémlésnél. Ha az oldat gyengén savanyú volna, nátriumhydrocarbonáttal gyengén lúgossá tesszük. Ha az oldat nem volna teljesen átlátszó, megszűrjük. Mert a vizsgálandó enzimoldatot toluol jelenlétében elegyítjük össze a pepton oldatával és 37°-on hagyjuk állni. A tyrosin kiválasztása peptolitikus enzimek jelenlétében nemsokára megkezdődik. A keletkezett tyrosin mérlegelése útján a módszer mennyiségi vizsgálatok kivételére is alkalmas.¹

Proteinek és peptonok helyett igen jó szolgálatokat tehetnek olyan polypeptidek, melyekben tyrosin van. A bekövetkező hidrolizist ilyenkor

¹ Abderhalden E. és Schittenhelm A.: Zeitschrift f. physiologische Chemie 67, 421—425 (1909.)

szintén a tyrosin kiválása mutatja meg. Nagyon jól beválik erre a célra a glycyl-l-tyrosin, melyet *Abderhalden* használt először tripszin ki-mutatására. E célból a vizsgálandó anyagból 5 cm³-t 0.2 g. glycyl-l-tyrosinnal és 2 csepp toluollal 37°-on hagyunk állni. Néhány óra múlva megkezdődik a tyrosin kiválása.

Glycyl-l-tyrosin előállítása.



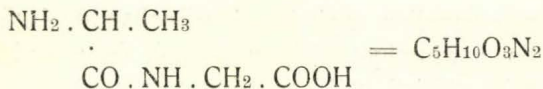
Úgy készül, hogy a chloracetyl-l-tyrosint ammonia hatásának tesszük ki. Chloracetyl-l-tyrosint a tyrosinaethyléterből állítunk elő. E célból tyrosint hétszeres mennyiségű abszolút alkoholban oszlatunk szét, száraz sósavgázt hajtunk a tömegbe és a folyadékot még két térfogat alkohollal elegyítjük és miután több óra hosszat visszacsepegő hűtővel felszerelt lombikban főztük, vákuumban besűrítjük. A maradékot alkohol-éter keverékéből átkristályosítva, a tyrosinaethyléterchlorhydrátját kapjuk meg selyemfényű kristályokban, melyeknek olvadáspontja 166°. A termékből 10 g.-ot 100 cm³ chloroformmal leöntünk és 0°-ra lehűtve, erős rázás közben, kis részletekben 41 cm³ normál nátriumhydroxidot elegyítünk hozzá. A szabaddá váló étert a chloroform kioldja. E közben 5 g. chloracetylchloridot 50 cm³ chloroformban oldunk és folytonos hűtés és rázás közben az oldat felét a reakciókeverékhez csepegtetjük. Chloracetyltyrosinéter keletkezik, de csak a jelenlevő éter feléből, másik fele pedig ismét az aethyléterchlorhydrattá alakul vissza. De ezt is kihasználhatjuk, ha a jól lehűtött elegybe felváltva kis adagokban 20 cm³ szódaoldatot és a chloracetylchlorid fennmaradt chloroformos oldatát elegyítjük. A szódaoldatban 4.7 g. víztől mentes nátriumcarbonát legyen. A reakció befejezése után a chloroformos oldatot elválasztjuk a vizes oldattól, kiizzított nátriumszulfáttal megszáritjuk, a chloroform legnagyobb részét vízfürdőn elűzzük s a visszamaradó chloracetyltyrosinaethylétert petroleuméterrel kicsapjuk. A terméket kevés chloroformban oldva, petroleuméterrel leválasztva, megtisztíthatjuk. Apró tűkben válik ki, melyek 86—87°-on olvadnak, alkoholban, acetonban, eczetéterben és forró benzolban könnyen oldódnak; nehezebben oldódnak éterben és még nehezebben petroleuméterben. A szabad chloracetyltyrosin előállítása céljából a majdnem mennyiségileg termelt aethyléterből 10 g.-ot 70 cm³ normál nátriumhydroxidban oldunk és negyed órai állás után, mire az elszappanosítás megtörtént, egyenértékű sósavval telítjük pontosan az oldatot. Több óra hosszat tartó 0°-on állás után körülbelül 6.8 g. chloracetyl-l-tyrosin kristályt kapunk, melyet tisztítás végett 6 s. r. forró vízből kristályosítunk át. A vegyület olvadáspontja 153—154°. Apró prizmákban válik ki, melyek alkoholban, acetonban nagyon könnyen, éterben, chloroformban nehezen, petroleuméterben alig oldódnak. A chlor-

acetyl-l-tyrozinból a dipeptidet úgy állítjuk elő, hogy a terméket 3 napig ötszörös mennyiségű olyan ammóniával hagyjuk 37°C -on állni, melyhez a vizet 0°C -on telítettük ammóniával. A folyadékot vákuumban teljesen szárazra párologtatjuk, a maradékot kevés vízben oldjuk és alkohollal addig elegyítjük, amíg zavarodás nem mutatkozik. A termelés ilyenkor 75—80%. Ha a termelést még jobban akarjuk fokozni, akkor a vízben oldott tömeget vákuumban baryumhydroxiddal párologtatjuk be, mire az ammónia elszáll; a feloldott maradékból a baryumot kénsavval teljesen kicsapjuk és a szüredéket ezüstacetáttal rázva, kiválasztjuk a chlort. A folyadékot megsűrjük, a benne levő ezüstöt cseppenként hozzáelegyített ammoniumchloridoldattal eltávolítjuk és a vákuumban besűrített maradékot alkohollal elegyítjük. Az ammoniumacetát az alkoholban oldva marad, míg az oldhatatlan tömeg a dipeptid egy és két molekula kristályvizet tartalmazó módosulatának keveréke. A $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$, H_2O alakot akkor kapjuk, ha a kevés vízben oldott maradékhoz annyi forró alkoholt elegyítünk, míg zavarodás nem mutatkozik. Lándzsavégalakú mikroszkópos lemezeké válnak ki, amelyek 185°C körül habzás közben megolvadnak, ismét megmerevednek és 295°C -on elbomlanak. A vákuumban megszárított anyag gázfejlődés közben 176 — 179°C -on olvad. Forró, tömény vizes oldatból kihüléskor a $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$, $2\text{H}_2\text{O}$ módosulat válik ki pyramisos alakú kristályokban, vagy hosszú tűkben; 129°C -on habzik, ismét megmerevedik és 295°C -on elbomlik. A forró vízből kivált termék forgatótehetsége $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +46.7^{\circ}$. Körülbelül 25 s. r. vízben oldódik és oldatából ammoniumsulfáttal kicsapható.

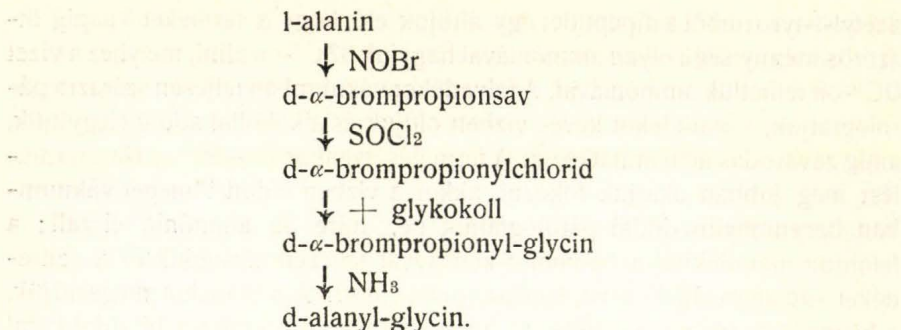
A tripszin hatásának felismerése és megfigyelése optikai úton.

Ha a tripszines hidrolízist optikai úton akarjuk megfigyelni, nagyon jó szolgálatokat tesz a d-alanyl-glycin-dipeptid, mely oldhatatlan reakcióterméket nem létesít; az oldat átlátszóságát tehát semmisem zavarja. A dipeptidnek és az őt alkotó aminosavaknak forgatótehetsége erősen különbözik egymástól, miért is a termék nagyon alkalmas optikai vizsgálatokra.

A d-alanyl-glycin készítése.



Előállítására céljából legcélszerűbb az l-alaninból kiindulni, mely nitrosylbromiddal a d-brompropionsavat létesíti. E savat savchloriddá alakítva, vele glykokollal d-brompropionyl-glycint létesítünk, mely ammónia hatására a kívánt dipeptiddé alakul. A reakciókat röviden a következőleg érzékelhetjük:



Az l-alanint élesztővel végzett erjesztéssel a d, l-alaninból készítjük. Miközben az élesztő a d-alanint feldolgozza, az oldatban l-alanin marad. E célból 10 g. d, l-alanint és 300 g. cukrot 2½ liter vízvezetéki vízben oldunk, majd minden sterilizálás nélkül 150 g. friss kisajtott élesztőt keverünk a tömeghez. Három napi erjedés után a szüredéket besűrítjük.

Nemsokára megkezdődik az l-alanin kiválása. A termelés körülbelül 65%. Az egész műveletet nagyobb méreteken is végezhetjük. A d-brompropionsav létesítése céljából 5 g. l-alanint 5·5 g. kénsavból és 15 cm³ vízből készült eleggyel leöntünk és erős hűtés közben 7·5 g. káliumbromidot, továbbá 12 g. brómot kevervén a tömeghez, három órán át erős nitrogén-oxid-áramot hajtunk rajta keresztül. Most újabb 4 g. brómot öntve hozzá, még egy óra hosszat nitrogén-oxidot hajtunk a tömegbe, majd a brom legnagyobb részét eltávolítjuk úgy, hogy a folyadékon levegőt szivatunk keresztül, a brom utolsó nyomait pedig kéndioxiddal teszszük ártalmatlanná; majd a brompropionsavat étérrel kioldjuk, az éteres oldatot kiizzított nátriumszulfáttal megszáritjuk, az étért elűzzük és a maradékot lehetőleg alacsony nyomás alatt (0·1 mm., olajszivattyú) desztilláljuk. A termék forgatótehetsége $[\alpha]_D^{20} = +44^\circ$. Savchloriddá úgy alakítjuk át, hogy a d-α-brompropionsavat fölös mennyiségű thionylchloriddal 55—65 C°-ra melegítjük és a terméket néhány óra múlva szaggyal lepárlásnak vetjük alá, mikor a d-α-brompropionyl-chlorid 12 mm. nyomás alatt 27 C°-on desztillál át.

A keletkezett terméket glykokollal párosítandó, 10·5 g. glykokollt 70 cm³ normális nátriumhydroxidban oldunk és erős hűtés és rázás közben kis adagokban felváltva 16 g. d-brompropionylchloridot és 46 cm³ 2× normális nátriumhydroxidot csepegtetünk bele. Mikor a savchlorid szaga teljesen eltűnt, 30 cm³ 5× normális sósavval megsavanyítjuk, a folyadékot vákuumban szárazra párologtatjuk, a maradékot étérrel ismételen kioldjuk, az éteres oldatot kiizzított nátriumszulfáttal megszáritjuk, besűrítjük és petróleuméterrel kicsapjuk. Üvegbottal való dör-

zsölésre a d-brompropionyl-glycin kristályosodása gyorsan megindul. A dipeptiddé átalakításra ez a nyers termék már alkalmas. Belőle 25 g.-ot 125 cm³ 25%-os ammóniában oldunk és két napig 25 C⁰-on hagyjuk állani, majd a folyadékot vákuumban szárazra pároljuk, kevés vízben oldjuk és alkohollal elegyítjük, miközben a dipeptid oldhatatlanul marad vissza. A termelés 14.4 g. Tisztítás végett a készítményt forró vízben oldjuk és meleg alkohollal addig elegyítjük, amíg gyenge zavarodás nem mutatkozik. Kihűléskor a körülmények szerint nagyon változatos alakban válik ki a d-alanyl-glycin. Némelykor tüket, vagy nyársalakú kristályokat, máskor tollszerű halmazokat, ismét máskor lapokban dús, tömör kristályokat alkot. Gyors hevítéskor, gázfejlődés közben, 235 C⁰ körül olvad. Háromszoros átkristályosítás után a forgatótehetsége állandóan $[\alpha]_D^{20} = +50.2^0$ marad.

Hogy a dipeptid hidrolizisét az oldat forgatótehetségének változásából miként lehet észrevenni, arról már a bevezetésben tájékozódhattunk.

* * *

A tripszin elnevezés a legújabb tudományos felfogás szerint egész enzimsorozatot jelent, melynek tagjai egymástól kisebb-nagyobb mértékben különböznek. A mai kazein- és vérsavó-módszerrel megvizsgálva, valamennyien pozitív eredményt adnak. Ha azonban arról van szó, hogy a közöttük fennálló különbségeket is kimutassuk, akkor alkalmazhatjuk azt a módszert, melyet Abderhalden és Brahm¹ használtak először a bélnedv és az élesztő kisajtott nedvében jelenlévő tripszin összehasonlításakor. Mindkettő hidrolizálja a d-alanyl-glycint, de különböző sebességgel. Ha az élesztő kisajtott nedvét kellőképpen vízzel hígítjuk, a két oldat triptikus hatása egyforma lesz. Most ezeket az oldatokat másik polypeptidre, pl. glycyl-l-tyrosinra engedjük hatni és ha észreveszszük, hogy a két oldat az új kémlőszert is egyforma sebességgel hidrolizálja, akkor bizonyosak lehetünk, hogy valóban ugyanazzal az enzimmel van dolgunk. Ha azonban az összehasonlítandó enzimek nem azonosak, akkor különbözőségüket az árúlja el, hogy az új alapanyagot különböző sebességgel bontják. Így van ez a bélnedv és az élesztő nedvének esetében is.

A tripszin kimutatásakor a peptonok és peptidek alkalmazása csak akkor bizonyítja valóban a tripszin jelenlétét, ha előzőleg sikerült meg tudni, hogy a vizsgálandó enzimoldat a természetes proteineket hidrolizálja is. A peptonokat és ugyanazokat a polypeptideket, melyeket a tripszin elbont, az erepszin is hidrolizálja; az utóbbi enzim azonban a változatlan proteinekkel nem bír.

¹ E. Abderhalden és C. Brahm, Zeitschrift f. physiol. Chem. 57, 342 (1908.) 1.

A tripszin sajátosságai.

Mikor a tripszin sajátosságairól beszélünk, mindig a hasnyálmirigy proteolitikus enzimjével végzett kísérletek szolgálnak alapul.

A tripszin a legtöbb proteint, továbbá sok albumózt és az egyszerű polypeptidek egy részét megtámadja. A különböző proteinek hidrolizise azonban nagyon változó sebességgel történik. Különösen a még élő fehérjék nagyon ellentállhatnak a tripszin hatásának. Példák erre a bél-paraziták és maga a bél fala. De hogy abszolút emészthetetlennek az élő proteinszövetek egyikét sem nevezhetjük, azt a legjobban Pólya¹ kísérletei bizonyítják, aki hatásos hasnyálmirigyvádékot fecskendezett az élő hasnyálmirigybe, mire a tripszin emésztő hatására súlyos nekrosis mutatkozott. Ma még nem tudjuk, hogy mi az oka az élő szövetek nagyobb ellentállásának. Talán az enzimmel ellentétesen működő antianyagok játszanak szerepet, melyeket az enzim csak akkor győzhet le, ha nagy fölöslegben van jelen, vagy talán a proteinek különleges kémiai sajátosságai is szerepet visznek? E mellett szólna az, hogy némely protein, pl. a vérsavó, hacsak kémiai hatásnak nem volt alávetve, holt állapotban is feltűnően ellentáll a triptáz hatásának. Mihelyt azonban a proteint meg-alvasztjuk, vagy savak hatásának teszszük ki, ellentállótehetsége egyszerre megszűnik. Ugyanez áll be akkor, ha a proteint akár nagyon rövid ideig tartó pepszines emésztésnek vetjük alá. Klug Nándor² szerint a kérdéses szövetek felületét elborító nyálka akadályozná meg azok megemésztődését.

A tripszin különleges működésére nézve rendkívül fontosak azok az eredmények, melyeket Fischer Emil és Abderhalden találtak.³ Ők a mesterségesen előállított különféle polypeptideket a Pavlov-féle hasnyálmirigyfisztulából származó tiszta hasnyálmirigyvádékra hagyták hatni és azt találták, hogy egy részük a tripszin hatására hidrolizist szenvedett, míg más részük érintetlen maradt, mint azt a következő összeállításból látjuk:

Hidrolizálhatók:

A bomlástermékek közül el lehetett különíteni:

* alanyl-glycin	glykokoll és d-alanin
* alanyl-alanin	d-alanin
* alanyl-leucin A	alanin és leucin
* leucyl-isoserin A	leucin és aktív izoserin
glycyl-l-tyrozin	glykokoll és l-tyrozin

¹ Pólya: Pflügers Archiv, 121, 61 l. (1906).

² Klug Nándor: Arch. int. Phys. V. 297 l. (1907).

³ Fischer Emil és Abderhalden Emil: Zeitschr. f. physiologische Chemie, 46, 52 l. (1905).

leucyl-l-tyrosin	leucin és l-tyrosin
* alanyl-glycyl-glycin	d-alanin és glycylglycin
* leucyl-glycyl-glycin	glycyl-glycin és l-leucin
* glycyl-leucyl-alanin	leucylglycin és d-alanin
* alanyl-leucyl-glycin	d-alanin és leucyl-glycin
dialanyl-cystin	cystin
dileucyl-cystin	cystin
tetraglycyl-glycin	glykokoll
triglycyl-glycinéter	glykokoll
(Curtius-féle biuret- bázis)	

Nem hidrolizálhatók:

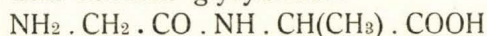
glycyl-alanin	aminobutyryl-aminovajsav
glycyl-glycin	A és B forma
alanyl-leucin B	glycyl-phenylalanin
leucyl-alanin	leucyl-prolin
leucyl-glycin	diglycyl-glycin
leucyl-leucin	triglycyl-glycin
aminobutyryl-glycin	dileucyl-glycyl-glycin

(A csillaggal jelölt peptidek racémalakok.)

A két sorozat összehasonlítása arra az eredményre vezet, hogy a tripszin hatása különféle okok következtében jöhet létre. Hatással lehet a peptid szerkezete, miként azt a hidrolizálható alanyl-glycin:



és az izomér, el nem bontható glycylalanin:



bizonyítja. Hatással van a hidrolizálhatóságra az alkotó aminosavak minősége, de főleg azoknak térbeli szerkezete. Legjobban bizonyítja ezt a racémalakoknak asszimétriás hidrolízise, vagyis az, hogy a racémalakban foglalt, optikailag hatásos két peptidből mindig csak az egyik bomlik el, a bomlástermékek pedig csakis olyan aminosavak, amelyek a természetben is előfordulnak. Azok a peptidek tehát, melyek a természetes proteinekben nem szereplő aminosavakból épülnek fel, a tripszin hatásának ellentállanak. E szerint megfordítva a tripszinnek mint kémilőszernek segítségével némely polypeptid térbeli elhelyeződését is földeríthetjük.

A triptázos hidrolízisre hatással van továbbá a polypeptidben összekapcsolt aminosavak száma is. Így a glycyl-glycin, a diglycyl-glycin és a triglycyl-glycin nem bomlanak, míg a tetraglycyl-glycin hidrolizálódik. Jellemző, hogy a Curtius-féle bázist, a triglycylglycinaethylétert a tryptáz hidrolizálja, amiből látjuk, hogy a carboxilcsoportnak átalakulásai milyen döntő hatással vannak az egész láncz ellentállóképességére.

A tripszint tiszta állapotban még csak megközelítően sem ismerjük, mert előállításakor nem a tiszta hasnyálmirigynedvből, hanem a hasnyál-

mirigy kivonatából indultak ki. Az eddig előállított legtöbb készítmény proteinszerű anyag, mely vízben és víztartalmú glicerinen könnyen, 40%-os alkoholban nehezen oldódik, tiszta glicerinen és erős borszeszben ellenben oldhatatlan. Ha a készítményt vizes oldatából alkohollal csapjuk ki, nagy része oldatlan marad és ennél fogva elvész.

Az élesztő endotriptáz hőmérsékleti optimuma 40—45 C°, a hasnyálmirigytripsziné alapanyagának jelenlétében 50—55 C°; amíg a reakciókeverék ezt a hőmérsékletet eléri, a tripszin hatásossága a hőmérséklet emelkedésével folyton növekszik. A tripszin vizes oldatban különben is rendkívül érzékeny a meleg iránt. Hatása már 38 C°-on fél óra lefolyása után egyharmadával csökken. Közömbös, vagy gyengén savanyú közegben 45 C°-on, gyengén lúgos közegben néha már 30 C°-on tönkremegy. Alkohol jelenlétében a tripszin csak 80 C°-on veszti el hatásosságát, amylalkohol pedig még 100 C°-on is védi az enzimet. Száraz állapotban még sokkal ellentállóbb. A proteinek, proteozok, még inkább a peptonok és aminosavak a tripszint a hő káros hatásai ellen megvédik; hasonlóképpen viselkedik az ammoniumszulfát-, chlorid-, nitrát-, phosphat és a konyhasó is. A tripszin az alacsony hőmérsékletet, még a folyós levegőt is, minden baj nélkül kiállja.

Vérszén, kaolin, aluminiumoxid, szérumalbumin adszorbeálják a tripszint. Kazeinnel az adszorbeált tripszint a szénből ki lehet vonni. Az élesztőendotriptázt fibrin, selyem, gyapjú, pamut, vászon, papíros és aszbeszt is adszorbeálja. Michaelis szerint a tripszin amfotér anyag, melyben a negatív jellem túlsúlyban van, Loeb szerint gyenge sav, mely csak negatív iónként szerepel. A tripszin lassan keresztüldiffundál a pergamenten, viszkózhártyán ellenben nem. Oldata, huzamos rázás után, hatástalanná lesz.

Működésének optimumát olyan gyengén lúgos oldatban mutatja, melynek hydroxylionkoncentrációja $1/20$ — $1/200$ normális; sósavból már 0.05%-nyi káros. Az élesztőendotriptáz ellenben leghatásosabb 0.2% sósav jelenlétében; működése közömbös oldatban már csökken, gyengén lúgos oldatban pedig teljesen megszűnik.

A tripszin működését hydrogenhyperoxid, továbbá dinatriumhydrophosphat gyorsítják; savanyú oldatban némelykor az epe is kedvező hatású, míg gyengén lúgos oldatban káros. Czukrok és glicerín csak nagyobb töménység mellett lassítják a tripszines hidrolízist, míg a saccharin, a széndiszulfid és a keményítő lassító hatása feltűnőbb. A chinin előnyös, ellenben a morphin, strychnin, narkotin és veratrin károsak a tripszines emésztésre. Formaldehyd jelenléte nagyon káros; a mercurichlorid megakasztja a hidrolízist, azonban anélkül, hogy az enzimet tönkretenné. A használatos fertőtlenítők csak a tripszin tömény oldatára károsak.

Az alkálifémek haloidsói kis mértékben lassítják a tripszines hidrolízist; erősebb a szulfátok, különösen pedig a nátriumoxalát hatása.

A rádiumbromid kisugárzása káros a tripszines hidrolízisre, ellenben ha a reakciókeverékhez rádiumsót, vagy rádiumemanációt tartalmazó vizet elegyítünk, a reakció élénkül.

A tripszin a pepszinnek és nukleáznak működését csökkenti; az erepszint tönkreteszi, viszont az erepszin a tripszint akasztja meg működésében.

A vérsavóban előfordul egy anyag, mely a tripszines hidrolízist lassítja. Ebben az anyagban sokan az *antitripszint* látják. A kérdéses, nagyon hiányosan ismert termék antikináz nem lehet, mert az enterokináz főlölege a savó ellenhatását nem tompítja, továbbá calciumchloriddal, valamint enterokinázzal aktivált tripszinoldatok egyformán veszítenek hatásukból, ha savóval keverjük őket. Antitripszinogén és antikináz már azért sem lehet jelen a savóban, mert ha a savó külön-külön hat, előzetesen a tripszinogénre és az enterokinázra, vagy a kettőnek egyikére: a két folyadék egyesítése után keletkező tripszin hatása mindig egyforma marad. Érdekes, hogy a vérsavónak antitripszintartalma betegségek folyamán, például ráknál növekszik, úgy hogy a rákos ember vérében föl lehet ismerni arról, hogy a tripszines hidrolízis működését lassítja. A reakció azonban nemcsak erre a betegségre érvényes. Az antitripszint a vízfürdő hőmérséklete, továbbá savanyú közeg tönkreteszi. Hasonló anyagok a májban, az izmokban, a mirigyekben, a lépben, a vesében és mellékvesében is előfordulnak. Egyes kutatók szerint az antitripszinek jelenléte akadályozza meg a bél falának önemésztődését.

Enterokináz.

A hatástalan tripszinogénnek tripszinné átalakítását végzi. Enzimettermészete még nem egészen bizonyos. Előfordul némely gombában (ilyenek az *Amanita muscaria*, *Boletus edulis*), számos baktériumban, a kígyók mérgeiben, a vérsavóban stb. Legfontosabb a bélnedvben való előfordulása. Enterokináztartalmú oldat előállítására céljából a kutya vékonybelének nyálkahártyájából vizes kivonatot készítünk és abba óvatosan annyi eczetsavat csepegtetünk, hogy a szüredéknek gyengén savanyú kémhatása legyen. A leváló csapadékban marad vissza az erepszin és a nukleoproteidek, míg a szüredékben enterokináz van. A folyadékot használat előtt 0.5%-nyi nátriumcarbonátoldattal gyengén lúgossá kell tennünk. A készítmény jóságát biztosítjuk, ha a kutyát előzőleg nyers lóhússal etetjük és carotisainak fölmetszése útján végezzük ki.

Az enterokinázoldatnak csekély mennyisége a hasnyálmirigy váladékában lévő tripszinogének nagy mennyiségét hatásossá teszi és trip-

szinné alakítja. Ha az enterokináz mennyiségét növeljük, az adott mennyiségű tripszinogénnek tripszines hatása csak egy ideig növekszik, azután állandó marad, sőt gyengülhet is, mert az enterokináz feleslege megint lassítja a tripszines hidrolizist. Az enterokináz kollodiamszűrőn áthatol. Vérszén, a vörös vérsejtek és a fibrin erőlyesen abszorbeálják. Ha enterokinázoldatot néhány fibrindarabkával rázunk, az enzim behatol a fibrinbe, anélkül, hogy észrevehető hatást gyakorolna reá. Oldódik 90%-os alkoholban és ez a tulajdonsága némiképpen az enzimtermészet ellen szól. Vizes oldatából calciumphosphat vagy tömény ecetsav kicsapja. Működését híg sósav megakasztja.

Ha a nátriumcarbonát 2%-nál töményebb, szintén felfüggeszti az enterokináz hatását, mely azonban a reakciókeverék közömbösítésekor újra beáll. Közömbös, vagy gyengén savanyú közegben 38 C°-on meglehetősen ellentálló; gyengén lúgos oldatban azonban gyorsan tönkremegy. Az általános esettel ellenkezőleg a proteinek jelenléte az enterokinázt a melegítés ellen nem védi, sőt még elősegíti a káros hatás bekövetkezését. Ha $\frac{1}{2}$ órán át 70 C°-ra, vagy 3 óra hosszat 67 C°-ra hevítjük, többé nem működik.

Purkinje és Pappenheim (1836) észlelte először, hogy a hasnyálmirigyváladék proteolites hatású. Később Claude Bernard, Kühne és Danilewsky foglalkoztak tüzetesen a tripszinnel és megalapították ismereteinket. Az enterokináz lényeges befolyását a hatástalan tripszinogénre Pavlow és Schepovalnikow, később pedig Delezenne tanulmányozta.

Kevéssé ismert proteázok.

A protozoáktól kezdve a gerinctelen állatok valamennyi csoportjában találtak hatásos proteolites enzimeket, melyeknek tulajdonságait azonban még nem tanulmányozták kellőképpen. Legnagyobb részük a tripszinhez hasonló, miért is csak emlitem őket, anélkül, hogy tárgyalásukra kiterjeszkedném. Összefoglalóan mint *zooproteázok*-ról szokás róluk beszélni. Az érdeklődőknek figyelmébe ajánlom Oppenheimer munkájának, továbbá a *Biochemisches Handlexikon*-nak megfelelő fejezeteit, amelyek a fontosabb irodalmi kútforrásokat is felsorolják.

A növényvilágban is számos esetben találtak proteolites enzimeket, amelyek a tripszinhez állanak legközelebb. Ezek a *phytoproteázok* néven összefoglalt enzimek különösen a csirázó magvakban jelennek meg, melyekben a fiatal növény számára a magban leraktározott proteineket hidrolizálják és teszik értékesíthetővé. Az árpa, kender, csillagfűrt, riczinusz, mák, répa stb. magvában erőlyes phytoproteázokat találtak, melyeknek ismerete azonban még nem annyira befejezett, hogy róluk részletesebben

lehetne megemlékezni. Az ananász levében a *bromelin* nevű poteolites enzimet találták. Az egyetlen, már régóta és jobban tanulmányozott és a triptáz-csoportba sorozható enzim a

papayotin (papain, papayicin, caricin),

a dinnyefának (*Carica papaya*) gyümölcsében és tejnedvében előforduló enzim, amelyet megtaláltak a közönséges fügében is. Előállítására céljából a gyümölcsnek vagy a tejnedvnek vizes kivonatát alkohollal elegyítjük, a keletkezett csapadékot vízzel kioldjuk, a szüredéket ólom-aczetátoldattal elegyítjük. Óvakodni kell a kémszer fölöslegétől. A szüredékből az oldatba jutott ólmot hidrogenszulfiddal csapjuk ki, a tiszta oldatot pedig vákuumban besűrítjük, s apró részletekben addig csepegtetünk hozzá alkoholt, amíg a papayotin kiválása megkezdődik. Most az oldatot gyorsan leszűrjük és belőle az enzimet alkohol fölöslegével leválasztjuk. A készítmény vizes oldata gyengén lúgos, vagy gyengén savanyú közegben a fibrint és ugyancsak gyenge kémhatás mellett a protaminokat részlegesen hidrolizálja. A triptázok családi vonását mutatja az a sajátsága, hogy a glycyl-l-tyrozin dipeptidet elbontja.

40 C°-on a hidrolízis nehezen és csakis úgy halad előre, ha a reakciókeverékbe mindúntalan friss enzimet elegyítünk. Ilyenkor proteázok és peptonok mellett aminosavak is keletkeznek. Különös sajátságot tanúsít a papayotin, ha tojásfehérjével vagy birka vérének savójával keverjük. Szobahőmérsékleten, vagy 37 C°-on 4 órai állás után hidrolízist nem lehet észlelni, azonban a tömeg folyóssá válik. Ha most a reakciókeveréket 80—90 C°-ra melegítjük, megindul az emésztés folyamata, még pedig annál gyorsabban, minél kevesebb ideig érintkezett az enzim alapanyagával alacsony hőmérsékleten. Ha a tömeghez mindjárt kezdetben sósavat elegyítünk, ez a különös viselkedés elmarad. A melegítéskor beálló gyors emésztés termékei között aminosavakat nem találtak. A papayotin hidrolízisének hőmérsékleti optimuma 80 C°, az enzimhatás már 70 C°-on is erőyes, de 95 C°-on teljesen megszűnik. A pepszin hatását kissé csökkenti, ő maga a pepszin és a tripszin hatására nem változik.

A dinnyefának gyümölcséből és tejnedvéből papayotintartalmú emésztést elősegítő gyógyszereket készítenek. Széltében használják is, de azt, hogy milyen eredménnyel, eldönteni nem lehet. Különösen olyan esetekben volna alkalmazandó, a mikor a gyomornedv sósavtartalma igen csekély. Jó hatását sokan kétségbe vonták.

Baktériumproteázok.

Sok baktérium testében is találtak proteolites enzimeket, melyek a tripszinhez többé-kevésbé közel állanak. Összefoglalóan *baktériumpro-*

teázok névvel jelölik ezeket az enzimeket. Előfordulnak pl. a cholera vibriókban, a bacillus pyocyaneus, anthracis, mesentericus vulgatus, fluorescens liquefaciens stb.-ben. Meg kell jegyezni, hogy a baktérium-proteázok között egymástól meglehetősen eltérő tulajdonságú enzimek szerepelnek és egyelőre csak szükségből tárgyalják őket közösen. Rend szerint könnyebben hidrolizálják a proteineket megalvadtt, mint természetes állapotukban, sőt az élő fehérjéket nagyon nehezen, vagy egyáltalában nem támadják meg. A proteolites hatás felismerése, követése és a bomlás-termékek vizsgálata úgy történik, mint a többi proteáznál.

Autolites enzimek.

Ha állati, vagy növényi szövetrészeket rothadást megakadályozó anyagok jelenlétében magukra hagyunk, a bennük előforduló proteinek többé-kevésbbé lassú hidrolízist szenvednek, melynek folyamán különféle proteintörmelékek között aminosavak is föllelhetők. Nyilvánvaló, hogy a sejtekben jelenlévő proteolites enzimek munkája változtatta el a proteineket. Ezeket a nagyon hiányosan ismert enzimeket egyelőre az autolites enzimek csoportjában foglaljuk össze. Tanulmányozásuk során nagy nehézséget okoz, hogy az autolízisnél rendszeren többféle enzim működik, s a vizsgálat végén csak a közös eredményt lehet észlelni, melyből az egyes hatásokra egyenként következtetni nem lehet. Tehát addig, amíg nem rendelkezünk olyan módszerekkel, amelyekkel az autolízis folyamataiban szereplő enzimeket egymástól elválaszthatjuk és őket külön-külön tanulmányozhatjuk, az autolites enzimeket részletesen nem tárgyalhatjuk. Addig az érdeklődőknek az előbb felsorolt munkákban kell fölkeresniök az eddig összegyűjtött adatokat.

Peptázok (peptidázok, peptolites enzimek).

Olyan polypeptidek hidrolizisét végzik, amelyekkel a tripszin nem tud megbirkózni. Működésük rendszeren különleges, s csak néhány polypeptidre szorítkozik.

A peptázok tárgyalása során ismét felmerül az a kérdés, melylyel már a szénhidrátokat bontó enzimeknél is találkoztunk: vajjon ugyanaz az enzim bír-e többféle peptidet hidrolizálni, vagy csakis egynek bontására alkalmas? A szénhidrátoknál megállapodtunk abban, hogy minden diszacharidnak különleges enzimje van. Ha a peptázoknál is ezt az álláspontot akarnók érvényesíteni, nagyon sokféle enzimet kellene feltételeznünk; továbbá a tripszin egységes voltát is meg kellene tagadnunk és annyiféle tripszint kellene megkülönböztetnünk, ahány peptidet meg tud bontani. A proteázoknál tehát már didaktikai szempontból is czélszerűbb

az olyan enzimeket, amelyeket esetleg idővel különmeműségük miatt egymástól el kell majd választanunk, egyelőre összefoglalóan tárgyalni.

A peptázok előfordulása és hidrolites működésük alapanyaga.

Az alacsonyabbrendű növényekben gyakran találkozunk peptázokkal. Az élesztő kisajtott nedve könnyen bontja a glycy-l-glycint, a glycy-l-tyrozint és a d-alanyl-d-alanint. A penészgombák közül többen erőlyes peptázokat tartalmaznak. Az *Allescheria Gayoni* többek között elbontja az l-leucyl-d-leucint, amely a természetben elő nem forduló aminosavakból van alkotva. Számos mag csirázásakor peptázok működnek. Férgék, rákok, rovarok testében szintén találtak polypeptideket hidrolizáló enzimeket. A ló vérenek savója a diglycy-l-glycint, a d, l-alanyl-glycy-l-glycint, a triglycy-l-glycint és a d, l-alanyl-glycint erősen, több dipeptidet pedig gyengén hidrolizál. A *B d e r h a l d e n* tanítványaival nagyon sok növényi és állati eredetű szövetben és nedvben keresett és talált peptázokat, azonban az eseteknek egyenként való felsorolása nem tartozhatik e munka keretébe. Elég legyen annyit megemlíteni, hogy a peptázok többnyire sejtek belsejében működő enzimek, melyeknek bizonyára fontos szerepük van.

Nagyon érdekes A *B d e r h a l d e n*-nek az az észlelete, hogy a peptázok keletkezése némely esetben mesterségesen előidézhető. A házinyúl vérsavója normális körülmények között a selyempeptont nem hidrolizálja; ha azonban az állat vénájába selyempeptonoldatot fecskendezünk, a vérsavója nemsokára hidrolizálja a peptont. A házinyúl vérében tehát peptáz jelent meg, mely rendes körülmények között nem mutatható ki benne. Érdekes példa ez arra, hogy az enzimek mindig ott keletkeznek, ahol szükség van rájuk.

A peptázok jelenlétének kimutatására és működésük megfigyelésére nagyon jó módszerekkel rendelkezünk, amennyiben az enzim *alapanyagaképpen* teljesen tiszta és jól ismert tulajdonságú anyagot használhatunk. Eczélből a vizsgálandó peptázoldatot különféle polypeptidekre engedjük hatni és megvizsgáljuk, képződtek-e a peptidből a várható bomlástermékek? A hidrolízis felismerésére legkényelmesebb eljárás az optikai módszer, amelynek alapelveit és jó tulajdonságait már a bevezetésben ismerttettem. Eczélből a peptidből lemért mennyiséget az enzimfolyadékban oldunk és olyan polarizáló csőbe töltjük, melynek felül nyílása van, azonkívül fémköpenynyel van körülveve, hogy a hőmérsékletet a köpenybe töltött meleg víz segítségével a forgatótehetség leolvasása közben is 37 C°-on tarthassuk. A felső nyílás arra való, hogy a reakciókeverék fölé toluolt rétegezhezzünk és a folyadékba hőmérőt sülyeszthessünk. Leolvasás után a reakciókeverék a csőben marad és a legközelebbi leolvasásig mindenestül visszakerül a termosztátba. Így a folyadék a polarizáló csövet a kísérlet kezdetétől a végéig nem hagyja el, miért is a hibák nagy része ki van küszöbölve.

Abderhalden és tanítványai¹ a glycyl-l-tyrosin peptázos hidrolízisének sebességét tanulmányozták és azt találták, hogy a reakció lefolyását a

$$\lg \frac{a}{a-x} + \varepsilon x = t \cdot C$$

egyenlet jól kifejezi. Itt a a még jelenlévő át nem alakult anyag, x pedig az átalakult anyag mennyisége, t az idő, ε és C pedig állandók.

Az enzim mennyiségének növekedésével a reakció elején a reakció sebessége is növekszik, nemsokára azonban a nagy enzimmennyiségek hatása eltompul, miből az következtethető, hogy az enzim a keletkezett bomlástermékekkel vegyül. Ezzel egybehangzóan az is észlelhető, hogy ha a reakciókeverékbe a peptidben szereplő optikailag hatásos aminosavakat teszszük: akkor a reakció tetemesen meglassul, míg az aminosavak optikai ellenlábasainak jelenlétében a reakció zavartalanabban megy végbe.

Ezenkívül Abderhalden tanítványaival reakciókinetikai szempontból még több esetet vizsgált meg, de a kísérletek nem szolgáltattak könnyen értelmezhető és áttekinthető eredményeket.

A peptázos hidrolízist calciumchlorid jelenléte gyorsítja; lúg és sav már csekély mennyiségben is károsak. A hőmérsékleti optimum változó és többnyire 45–55 C° között van.

Erepszin (ereptáz).

A peptázok csoportjához tartozó enzim, mely a többi peptáztól csak abban különbözik, hogy működésköre tágabb. Az erepszin ugyanis valamennyi polypeptidet hidrolizál, mely a természetben előforduló aminosavakból épül fel. Minthogy a peptonok és albumózok, mint tudjuk, szintén polypeptidkeverékek, természetes, hogy az ereptáz ezeken is érvényesíti hidrolizáló tehetségét. A tripszintől abban különbözik, hogy a természetes proteineket, kivéve a kazeint, a protamint és a hisztonokat, nem támadja meg. A tojásfehérjét nagyon gyengén, a hipursavat pedig egyáltalában nem hidrolizálja.

A rövid jellemzésből is érthető az erepszin fontos szerepe. Arra, hogy szervezetünk a felvett proteineket értékesíthesse, azoknak az aminosavakig való lebontása szükséges, mert csak így történhetik a szervezet testét felépítő új proteinek szintézise. Az első lebontást a pepszin végzi. A keletkező peptonok és albumózok egy részét ugyan a tripszin is tovább hidrolizálja, de egymagában nem bírja a feladatot elvégezni. Most kerül a sor az erepszinre. Ez az enzim azokat az aminosavhalmazokat hidrolizálja, amelyekkel a tripszin nem boldogult. A pepszin,

¹ Abderhalden E. és Michaelis L.: Zeitschrift f. physiolog. Chemie, 52, 306–337 (1907) 1.; Abderhalden E. és Gigon A.: Zeitschrift f. physiolog. Chemie, 53, 251–279 (1907). 1.

tripszin és erepszin egymás után gyakorolt és a kellő ideig tartó hatása útján a legtöbb proteint a szabad aminosavakig hidrolizálhatjuk.

Az erepszin a peptázoktól abban is eltér, hogy míg ezek a szövetek belsejében, a sejtekben végzik működésüket, az erepszin sejtváladék, mely az őt termelő szöveten kívül fejt ki hatását, akárcsak a pepszin, vagy a tripszin.

Az erepszin előállítása. 24 óra óta éhező kutyának megnyitjuk a két carotis-erét, mire az elvérzik. Az állat beleit vízáramban jól lemoszuk, arról a nyálkahártyát késsel lekaparjuk és a tömeget olyan 9%-os konyhasóoldatban áztatjuk, amelyet csekély mennyiségű szóda hozzáadásával gyengén lúgossá tettünk. Két térfogat szüredéket három térfogat tömény ammoniumsulfátoldattal elegyítünk, mire az erepszin leválik. A csapadékot leszűrése után vízbe szuszpendáljuk és toluol jelenlétében dializáljuk. Az ammoniumsulfát eltávolításakor a csapadék ismét feloldódik. Az oldatot megszűrése után ismét tömény ammoniumsulfátoldattal elegyítjük és a csapadékot megint dializálással tisztítjuk. Néhányszor megismételve az eljárást, nagy veszteségek árán olyan készítményhez jutunk, amelynek erepszinhatása nagyon erős. A konyhasóoldattal való kivonás helyett a nyálkahártyának nagy nyomással kisajtolt nedvét is használhatjuk.

Az erepszin kimutatását és működésének nyomon követését hasonló módszerek segítségével végezzük, mint aminóket a peptázoknál alkalmaztunk. Czélszerű lehetöleg sokféle peptidet venni vizsgálat alá, azonkívül néhány peptonon, illetöleg albumózon is kipróbálni az erepszin hatását.

Az erepszin sajátosságai. Az erepszines hidrolizis termékeiképpen ammónia és aminosavak jelentkeznek. A hatás legkedvezöbb 0.06% nátriumcarbonat jelenlétében. Szabad alkálifémhydroxid jelenléte már nem kedvezö; csekély savmennyiségek pedig már teljesen megakasztják a reakziót. A hőmérsékleti optimum 38 C°. Ha az erepszin oldatát 2 órán át 68 C°-ra melegítjük, hatástalanná válik; hosszabb ideig tartó melegítés közömbös; proteintartalmú oldatban már 59 C°-on káros, míg száraz állapotban 130 C° hőmérsékletet is elvisel. A tripszin hatására tönkremegy, míg ő maga az amilázt, az invertázt és a tripszint akasztja meg működésében.

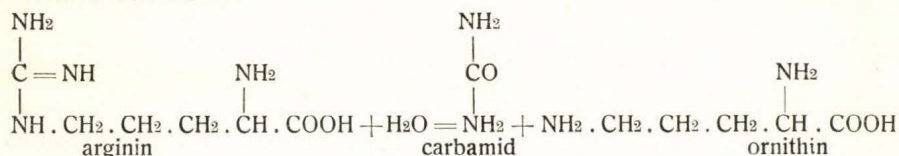
Euler¹ a glycyl-glycin erepszines hidrolizisét tanulmányozta reakciókinetikai szempontból. A reakció sebessége az első félórán monomolekulás, ezután pedig a hatás csökkenik. Az enzimnek és alapanyagának bizonyos koncentráció-viszonya mellett a hatás sebessége a peptid koncentrációjától független. A viszonyok áttekintését nagyon zavarja az, hogy az átalakult anyag mennyiségét a hydroxylionok koncentrációja nagy mértékben befolyásolja.

¹ Euler H.: Zeitschrift für physiologische Chemie 51, 213 (1907). 1.

II. Egyszerű amidázok.

Argináz.

Az arginint víz jelenlétében úgy bontja el, hogy carbamid és ornithin keletkezik:

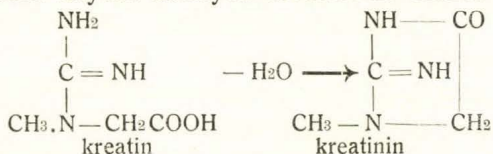


Legelőször a májban találták meg; majd a bél nyálkahártyájában, a vesében, a pajzsmirigyben és az izmokban is kimutatták jelenlétét. Az argináz a növényvilágban is elterjedt.

Kimutatása céljából a kérdéses anyagot arginincarbonat jelenlétében antiszeptikus körülmények között 5—10 napig 37 C°-on tartjuk, majd a proteinek felfőzés útján megalvasztjuk és a szüredéket phosphorwolframsavval kezeljük. A változatlan arginin, meg a létesült ornithin is kicsapódik és a szüredék nitrogéntartalmát a Kjeldahl-féle eljárással meghatározva, megtudhatjuk, mennyi carbamid képződött. Ellenőrző próbaképpen a szüredékből a carbamidot el is különíthetjük, ha a bepárolgatott szüredék maradékát alkohollal kivonjuk.

Kreatináz, kreatáz.

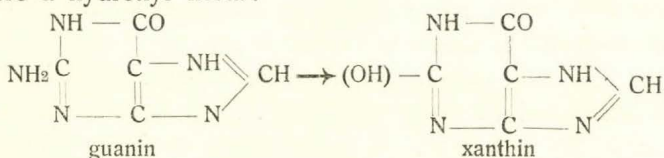
A kreatint és a kreatinint bontja el. A bomlástermékek minősége azonban még nincsen földelítve. Mindössze az bizonyos, hogy a kreatin anhydrid létesülése folytán könnyen kreatininné alakul át:



Jelen van a májban, a vesében, az izmokban, a lépben, stb.

Guanáz.

A guanint xanthinná alakítja át, miközben a guanin amidocsoportjának helyére a hydroxyl kerül:

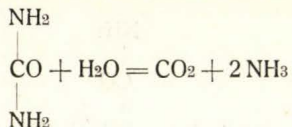


Jelenlétét a marha májában, lépében, a házinyúl tüdejében, a macska májában és az embernek minden eddig megvizsgált szervében kimutatták.

Kimutatása céljából a kérdéses kivonatot guaninnal több napig költőszekrényben tartjuk és a keverékből a létesült xanthint elkülönítjük.

Uredz.

A carbamidot víz jelenlétében széndioxidra és ammóniára bontja:



Előfordul néhány gombában és baktériumban, továbbá számos magasabbrendű növényben. Vizsgálataim szerint különösen a hüvelyesek családjához tartozó növényekben van jelen nagyobb mennyiségű ureáz, még pedig főképpen azok magvában.

Kimutatása azon alapszik, hogy a reakció folyamán létesült ammóniát meghatározzuk. Eczélből a vizsgálandó anyagot toluol jelenlétében 1 vagy 2%-os carbamidoldattal néhány napig költőszekrényben pihentetjük. Egyszersmind még két ellenőrző próbát állítunk be. Az egyikben a vizsgálandó anyagnak ugyanakkora mennyiségét ugyanannyi víz és toluol jelenlétében tartjuk és a keverékből mindössze a carbamid hiányzik; egy harmadik próbát pedig a kísérletekhez használt carbamidoldattal végzünk enzim nélkül.

A kérdéses idő leteltével mindhárom próbát egyenlő mennyiségű mésztejjel keverjük és a keveréket egyenlő ideig desztilláljuk olyképpen, hogy az áthajtott ammóniát titrált kénsavban fogjuk fel. A kapott adatokból megtudjuk, hogy mennyi ammónia keletkezett az enzim-készítményből magából és a vizsgálandó carbamidoldatból a kísérlet körülményei között. Ezeket az ammóniamennyiségeket levonva abból az adatból, amelyet az első próba szolgáltatott: megtudjuk, hogy mennyi carbamid bomlott el az enzim hatására?

Az ureázt száraz készítmény alakjában is elő lehet állítani. Shibata¹ szerint *Aspergillus niger* gombát tenyésztünk olyan oldatban, amely 1—3% peptont, 0.3—3% cukrot és 0.2% tápláló sókat tartalmaz. 3—5 heti tenyészet után a gombákat az oldattól elkülönítjük, rövid ideig erős vízszugárral lemoszuk, hogy a conidiumokat lehetőleg eltávolítsuk és a tápoldat utolsó nyomait is kioldjuk; majd pedig erélyesen kisajtoljuk és durván szétaprítjuk. A tömeget most tiszta aceton alá, majd ebből rövid állás mulva friss acetonba teszszük át és körülbelül 15 percznyi hatás után leszűrjük és szűrőpapiros között való gyors szárítás után éterrel mossuk. Az éter eltávolítása után a tömeget finom porrá lehet zúzni és 37 C°-nál körülbelül 12 óráig szárítani. Az így termelt készítmény erős ureázos hatásokra alkalmas. A szójababból is igen hatásos száraz-készítményt állíthatunk elő.

¹ Shibata K. Hofmeisters Beiträge 5, 384 (1904.) 1.

II. Megalvasztó enzimek (koagulázok).

Az oltóenzim (chymosin; chymáz).

Jellegzetes tulajdonsága, hogy megfelelő körülmények között a tej megalvadását idézi elő. Eközben a tejben jelenlévő kazeinből albumóz válik szabaddá, ő maga pedig parakazeinné alakul át. Az enzim munkája tovább nem terjed. Hogy a megalvadás létrejön, az már a mézsók jelenléte folytán bekövetkező másodlagos folyamat, amely az enzim hatásától független.

Az oltóenzimről, az idevágó terjedelmes irodalom daczára, szabatos foglalmaink nincsenek. Sokan még azt is kétségbe vonták, hogy önálló enzim és egyszerűen a pepszinnel azonosították. Bizonyos ugyan az hogy e két enzim elválaszthatatlanul mindig együtt jelenik meg, de viszont korai volna Pawlow kezdeményezésére azt állítani, hogy a kétféle (pepszines és oltóenzimes) hatás ugyanazon enzimnek tudható be. Elképzelhető ugyan, hogy ugyanaz az anyag a körülményekhez képest más és más hatásra legyen alkalmas;¹ egyelőre azonban czélszerűbb, ha külön enzimnek tekintjük mindkettőt ama megfigyelés alapján, hogy a pepszinkészítmények valamennyien tartalmaznak oltóenzimet, ellenben olyan chymosint sikerült már előállítani, amelynek pepszinhatása úgyszólván alig volt.

Az oltóenzim előfordulása.

Ugyanott, ahol a típusos pepszin jelen van, képződik zymogén alakjában az oltóenzim is. Eszerint az enzim képződéshelye a gyomornak nyálkahártyája és Hammarsten a zymogént megtalálta valamennyi állatban, amelyet eddig erre megvizsgált. Újszülött állat még nem rendelkezik oltóenzimmal, ellenben születése után nemsokára nagy mennyiségben jelenik meg az oltó. Súlyos betegség esetén a nyálkahártya nem termel oltót. A gerinctelen állatok között sokan (fejlábúak, férgek, rákok stb.) proteázok kíséretében oltóenzimet is termelnek. Az oltóenzim jelenléte a gyomor falában a régebbi szerzők szerint jelentőség nélkül való, sőt fölösleges. Az újabb kutatók véleménye azonban ezzel teljesen ellenkező, a mióta kísérletileg beigazolt tény, hogy a megalvadott proteinek pl. a pepszin emésztő hatásával szemben sokkal kevesebb ellentállást fejtenek ki, mint ha oldott állapotban vannak. Még egy jelentősége van az oltóenzim működésének és ez az, hogy a tejből kicsapódott parakazein sokkal hosszabb ideig maradhat a gyomorban és így az emésztés nyugodtabban

¹ Michális pl. föltételezi, hogy a pepszin savanyú közegben mint kation szerepel, ellenben semleges oldatban az anion viselkedése lép előtérbe és előidézi az oltóenzim-hatásokat.

és mélyrehatóbban mehet végbe; másrészt pedig a parakazein mellett lévő savó a gyomrot külön hagyhatja el és fölösleges módon nem hígítja föl annak emésztőnedveit.

Az oltóenzim előállítása.

Az enzim tanulmányozásához szükséges anyagot legtöbbször magunk állítjuk elő olyképpen, hogy az oltóenzim-tartalmú nyálkahártyát 0.1—0.2%-os sósavval vonjuk ki. A kioldást azért kell sósavval végezni, mert ennek hatására lesz az oltó zymogénjéből enzim. A kivonat megszűrés és gondos semlegesítés után alkalmas oltó hatásokra (bővebben l. a szabályos oltóenzim készítésénél van Dam szerint). Friss gyomor-nyálkahártya helyett szárított nyálkahártyát is vehetünk és a híg sósavas kioldás helyett glicerines kivonatot is alkalmazhatunk.

Gyakran szükséges, hogy összehasonlítás céljából könnyen eltartható és lehetőleg állandó hatású oltóoldatunk legyen. Erre a célra a legjobb a gyárilag nagy mennyiségben előállított és aránylag állandó összetételű készítményekből kiindulni. Ezek közül legerélyesebb hatásuk van a rostok-i Witte gyárban előállított készítményeknek.

Ebből 0.2 g.-ot 100 cm³ desztillált vízzel leöntve, 24 óra hosszát hagyjuk gyakori felrázás közben jégszekrényben állani. Erős és hosszabb ideig tartó rázás pl. rázógépen nem előnyös, mert a készítmény hatása nagyon gyengül. A 24 óra leteltével az oldhatatlan résztől a folyadékot centrifugálással elkülönítjük s most az átlátszó oldatot vele egyenlő térfogatú glicerinnel elegyítjük. Sötét színű üvegben, jég-szekrényben az így készült oldat hosszabb ideig változás nélkül eltartható.

Tekintve, hogy az oltókészítmény egyúttal mindig pepszinhatást is fejt ki, fontos volt olyan módszer kidolgozása, amely olyan készítmény előállítását teszi lehetővé, hogy a legnagyobb oltóhatás mellett a kísérő pepszinhatást a legkisebbre szorítsuk le. Ezzel a kérdéssel Hammarsten¹ foglalkozott a legalaposabban és az ő ajánlatára a következőképpen járunk el:

A savanyú oltógyomorkivonatot semleges alkalikazeinát-oldattal elegyítjük, még pedig olyan arányban, hogy a legelőször kicsapódó kazeint a sav éppen újból feloldja. Az így kapott savanyú kazeinoldathoz most csak annyi $\frac{1}{10}$ normál nátronlúgot csöpögtetünk, amíg savanyú közegben még erős kazeincsapadék keletkezik, úgy, hogy az oldatot még könnyen szűrhessek. A kicsapódó kazein magával rántja a pepszint is, meg a chymosint is, de az előbbi aránytalanul nagyobb mennyiségben. E szerint a víztiszta, savanyú szüredékben a két enzim mennyiségi viszonya egészen más, mint az eredeti oltókivonatban volt.

¹ Hammarsten O.: Zeitschr. f. physiologische Chemie, 74, 142 (1911); 56, 18 (1908).

Könnyű belátni, hogy a kazeintartalmú kivonatot nátronlúggal semlegesíteni nem lehet, hanem csak annyi nátronlúgot szabad adagolni a keverékhez, hogy bőséges csapadékkiválás legyen. Hiszen ha a reakciókeveréket alkalival teljesen semlegesítjük, akkor a kazein kazeinalkali képződése közben ismét feloldódik. Éppen ezért a lúg szükséges mennyiségét minden esetben külön meg kell állapítanunk.

A kazeincsapadék szűredéke, hogy ha helyesen dolgoztunk, víztiszta és meglehetősen savanyú. A folyadékot közvetlenül használhatjuk a chymosin, illetőleg a pepszin vizsgálatára. Mivel azonban a chymosin jelenléte csak akkor bizonyítható be szigorúan, ha semleges közegben dolgozunk, a chymosinpróba végzése céljából a szűredéket pontosan kell telíteni (indikátorul lakmuszt használva) és olyan eredeti próbával összehasonlítani, amelyet pontos semlegesítés után vízzel ugyanolyan térfogatra hígítottunk. A chymosinhatás mérésére a kapott oldatokat közvetlenül tejjel vizsgáljuk meg; a pepszinhatás mértékének megállapítására pedig eredeti savanyúsági fokát sósav alakjában ismét visszaállítjuk. Az eljárás közelebbi megismerése céljából leírok egy kísérletet, amelyet Hammarsten maga végzett.

A borjúoltó-kivonat 0.245% sósavat és 0.818% szilárd maradékot tartalmazott. A kazeinoldat semleges volt és nátriumvegyület alakjában 4% kazeint oldottak föl benne. A savanyú oldatnak 135 cm³-ét folytonos keverés közben 200 cm³ kazeinátoldattal elegyítették. Anélkül, hogy a kazein teljes föloldódását bevárták volna, a keverékhez körülbelül 5 percz mulva $\frac{1}{10}$ normál nátronlúgot csöpögtettek folytonos keverés közben. (Rázni nem szabad!) 16 cm³ hozzáadása után nagy mennyiségű, nagy pelyhekből álló csapadék állott elő, amely könnyen szűrhető volt. A szűredék víztiszta és savanyú kémhatású. A szűredékből 300 cm³-t mértek le (ez az eredeti kivonat 115 cm³-ének felel meg) és 27 cm³ $\frac{1}{10}$ normál nátronlúg hozzáadása után érték el a semleges pontot. Ezután az eredeti oldat semlegesítése következett, amelynek 30 cm³-ébe 20.1 cm³ $\frac{1}{10}$ normál nátronlúgot kellett keverni, hogy a semlegesítés teljes legyen. A két folyadék megalvasztó képességének meghatározásakor kitűnt, hogy a kazeinátal kezelt és kicsapott oldat chymosintartalma $\frac{1}{3}$ -a az eredetinek. Ezzel szemben azonban pepszintartalma a Matt-féle eljárással mérve, 0.3% sósav jelenlétében olyan csekély lett, hogy többé nem volt kimutatható.

Az oltóenzim kimutatása és meghatározása.

Minőségi kimutatás céljából a kérdéses oldat kémhatását vizsgáljuk meg és a kísérlet elvégzése előtt pontosan telítjük nátriumkarbonáttal, esetleg híg sósavval, indikátorul lakmuszt használva. A sav fölöslegétől éppúgy óvakodnunk kell, mint a lúgos kémhatástól. A folyadékból néhány cm³-t most 10 cm³ friss tejhez keverünk és a próbát a költségcsokrénybe

állítjuk. Nagyobb mennyiségű oltóenzim jelenlétében a tej 5—10 percz, legkésőbb 30 percz alatt tökéletesen megalvad. Kivált a mennyiségi vizsgálatoknál kell vigyázni, hogy a használt tej ne legyen savanyú, mert akkor használhatatlan eredményt kapunk. Gyomortartalom-vizsgálatok esetén pedig nem szabad figyelmen kívül hagyni azt, hogy rendellenes esetekben, amikor a savtartalom igen csekély, vagy éppen hiányzik, az oltóenzim csak zymogénje alakjában van jelen. Ilyenkor előbb a zymogént 0·36⁰/₀ ¹/₁₀ normál sósavval 15—24 óráig pihentetjük, hogy előbb oltóenzimmé alakítsuk és csak azután térhetünk át a semlegesítésre és magára a vizsgálatra.

Az oltóenzim hatásának mennyileges meghatározására a legjobb módszert Blum és Fuld¹ dolgozta ki. Nagy előnye, hogy a megalvadó tehetségében rendkívül változó kereskedésbeli tej helyett az eljáráshoz szárított és összetételében úgyszólván teljesen állandó tejporthat használ. Az ilyen meghatározásokhoz alkalmas készítményt a Gabler-Saliter-gyár Obergünsbergben (Allgäu) „sovány tejporthat néven állítja elő. A készítményből 10 g-ot 100 cm³ 50 C⁰ meleg desztillált vízzel elkeverünk, miközben a tejporthat úgyszólván teljesen feloldódik; később csekély mennyiségű üledék rakódik le, amelyet azonban figyelmen kívül hagyhatunk. A kész tej 100 cm³-éhez most 0·5 cm³ 20⁰/₀ os kalciumchloridoldatot keverünk és ekkor már használható a mesterséges tej.

A módszer lényege az, hogy a tejjel kevert vizsgálandó anyagot szobahőmérsékleten 2 óráig pihentetjük, miközben a jelenlévő chymosin a tej kazeinját parakazeinná alakítja. A két óra leteltével a próbákat 38 C⁰ meleg vízfürdőbe állítjuk és 10 percz múlva megfigyeljük a megalvadást.

A meghatározás kivitele a következő: Jénai üvegből készült sterilizált kémcsövekbe sterilizált pipettával olyan mennyiségeket mérünk le, hogy azoknak egymáshoz való viszonya olyan sorozatot alkosson, mint 1·0 cm³, 0·5 cm³, 0·25 cm³, 0·125 cm³ stb. Pontosabb meghatározásokhoz legcélszerűbb mértani haladvány szerint állítani be a próbához használt oltómenntiséget; pl.: 1·0, 0·77, 0·6, 0·46, 0·36, 0·28, 0·22, 0·17, 0·129, 0·1 cm³. Most a próbákat desztillált vízzel mind ugyanakkora térfogatra hígítjuk és mindegyik kémcsőbe 10 cm³ mesterséges tejet keverünk, majd pedig 2 óráig szobahőmérsékleten állani hagyjuk. Ezután egyszerre valamennyi próbát a 38 C⁰-os vízfürdőbe helyezzük és hideg vízbe való beállítás után 10 percz múlva megfigyeljük, hogy melyik az a kémcső, amelyiknek tartalma teljesen megalvadt, de egyúttal az enzim legcsekélyebb mennyiségét tartalmazza.

Hogy a kísérlet adataiból az enzimhatás erősségét, illetőleg az enzim mennyiségét kiszámíthassuk, egységre van szükségünk. Az oltóenzim

¹ Blum L. u. Fuld E.: Berliner Chemische Wochenschr. 1915, Festnummer; Ewald: Biochem. Z. 4. 62 (1907.) 1.

egysége az az enzim-mennyiség, amely 1 cm³ tejet a kijelölt idő alatt teljesen megalvaszt. Tegyük föl, hogy valamely kísérlet eredményeképpent azt kaptuk, hogy az enzimoldatból 0.0046 cm³ 10 cm³ tejet még éppen meg tudott alvasztani. Ekkor az oltóenzimegységeket úgy kapjuk meg, ha a

$\frac{10}{0.0046}$ tört értékét kiszámítjuk. Az eredmény 2170. Ez azt jelenti, hogy az enzimoldat 1 cm³-e 217 cm³ tejet képes megalvasztani.

Az oltóenzim hatásának a megállapítására többször alkalmazzák a Morgenroth-féle¹ eljárást is, amelynél a kazeinnek parakazeinig való átalakulása 24 óra lefolyása alatt történik a jégsezkrény hőmérsékletén; azután következik a második fázis, a megalvadás, 37 C°-os vízfürdőben. 15 percz múlva itt is megkeressük azt a próbát, amelyik a legkisebb enzimmennyiségtől még megalvadt. Ha valamelyik próbában már a jégsezkrényben való állás folyamán megalvadás mutatkoznék, akkor a kísérlet nem sikerült és meg kell ismételni.

Sokan használják az u. n. meleg eljárásokat, amelyeknél a próbák azonnal 37 C°-os vízfürdőbe vagy költősezkrénybe kerülnek. Előnyösebb és pontosabb azonban a kétfázisos módszer, különösen a Blum és Fuld ajánlotta alakban.

A „megalvadás idejének” meghatározása Fuld szerint.²

Előzetes kísérletben nagyjából megállapítjuk azt az oltómenyiséget, amely 5 cm³ tejet 40 C°-on 2—3 perczen belül megalvaszt. Ezután egy sorozat jénai kémlecsőbe 5—5 cm³ friss tejet öntünk, az Ostwald-féle termosztátban 40 C°-ra előmelegítjük őket, egyszersmind pedig több kémcsőbe kimérjük az előzetes kísérlet alapján talált oltómenyiségeket és a termosztátban ezeket is előmelegítjük. Ezután kezdődik a tulajdonképpeni kísérlet, amelynek lényege az, hogy egy-egy tejpróbába a megfelelő oltóoldatot úgy öntjük át, hogy a rendszer lehetőleg 40 C°-on maradjon. Legczélszerűbb ezt olyképpen végezni, hogy bal kézzel a tejet tartalmazó kémcsövet a 40 C°-os fürdőbe mártva tartjuk, az oltóoldatot tartalmazó kémcsövet pedig jobb kezünkkel a fürdőből egy pillanatra kiemelve, tartalmát azonnal a tejet tartalmazó kémcsőbe öntjük át és ugyanabban a pillanatban jelt adunk a nekünk segítő egyénnek, aki megindít egy stopper-órát, amelylyel azután a megalvadás idejét megmérhetjük. Amint az oltóoldatot a tejhez öntöttük, a kémcsövet a vízfürdőben mozgatjuk, hogy az enzim állandóan egyenletesen legyen a tejben eloszolva. Eközben élesen ügyelünk arra, hogy mikor kezdődik a meg-

¹ Morgenroth J.: Zentralblatt f. Bakteriologie 26, 349 (1899); Fuld E.: Biochem. Zeitschr. 4, 54 (1907).

² Fuld E.: Hofmeisters Beiträge 2, 169 (1902).

alvadás. Bizonyos idő lefolyása után egyszerre látjuk, hogy a tej megkásásodik. Legjobban úgy figyelhetjük meg ezt a jelenséget, ha szemügyre vesszük a kémcső oldalán a mozgatás folytán felcsapódó és azután lefelé csurgó folyadékot. Amíg a megalvadás nem kezdődik meg, a lefolyó tejes folyadék teljesen egyneműnek látszik, amint azonban a megalvadás bekövetkezik, az edény falához tapadó pelyhek jelennek meg. Mikor ezt a jelenséget megfigyeltük, jelt adunk az óra kezelőjének, aki az órát ismét megállítja. A két jel között lefolyt idő adja a *megalvadás idejét*. Tekintve, hogy az ilyen meghatározás elkerülhetetlen hibaforrásokkal terhelt, sohasem elégedhetünk meg egyetlen kísérlettel, hanem a kísérletet legalább is háromszor, vagy még többször megismételjük és az eredmények középértékét vesszük döntőnek. Célyszerű nem túlságosan keskeny kémcsövekkel dolgozni és figyelembe venni azt, hogy a próbák előmelegítéséhez legalább is 3 percz szükséges.

Az oltókészítmény értékének meghatározása a „megalvadás idejéből“.

Most vegyük szemügyre azt, hogy a megalvadás idejének meghatározása útján miképpen állapíthatjuk meg a kérdéses oltó hatásosságát. Ilyen esetekben először is valaminő egységet kell megállapítani. Devarda¹ ajánlatára a mezőgazdasági kísérleti állomások *szabályos oltóoldatnak* azt az enzimoldatot nevezik, amelynek 1 térfogata 35 C⁰-on 10,000 térfogat normális tehéntejet 40 percz alatt megalvaszt.

Soxhlet szerint a tej mennyisége (v), amelyet különben állandó körülmények között valamilyen oltó megalvasztani képes, mindig arányos a használt oltó mennyiségével (o) és a megalvadás idejével (t).

Eszerint, ha két különféle oltókészítménnyel van dolgunk, a melyeknek jellemző adatait az előbbi jelzés alapján $v_1, v_2; o_1, o_2; t_1, t_2$ betűkkel jelöljük: akkor a kétféle oltó hatásosságának értékei (h_1 és h_2) a következőképpen viszonylanak egymáshoz:

$$\frac{h_1}{h_2} : \frac{v_1}{v_2} = 1 : \frac{o_1 t_1}{o_2 t_2};$$

$$h_1 : h_2 = v_1 o_2 t_2 : v_2 o_1 t_1;$$

ebből pedig
$$h_1 = h_2 \cdot \frac{v_1 o_2 t_2}{v_2 o_1 t_1}.$$

Ha ebbe az egyenletbe a szabályos oltóoldatra vonatkozó jellegzetes adatokat $v_2 = 10,000$ és $t_2 = 40$, behelyettesítjük, akkor az ismeretlen oltó hatásosságának értékét megkaphatjuk a

$$h_1 = \frac{40 v_1}{o_1 t_1}$$

kifejezésből, ha a talált adatokat az egyenletbe helyettesítjük.

¹ Devarda A.: Die landwirtschaftliche Versuchstationen 47, 401 (1896).

A szabályos oltóenzim készítése van Dam szerint.¹

Mivel a tej megalvadás-idején alapuló módszerek a leggondosabb kivitel esetén is olyan eredményeket adnak, hogy a szabályos oltóoldat titer-beállításakor 5·9⁰/₀-ig terjedő hiba elkerülhetetlen: van Dam igyekezett olyan módszert kidolgozni, amely könnyű és egyszerű, de egyúttal pontosabb is legyen. Sikerült is neki állandó ionkoncentráció alkalmazásával, a 24 órás emésztőhatásnak kitett kazeinszűrletben az oldott nitrogénnek Kjeldahl szerint való meghatározása útján használható és pontos eljárást kidolgozni.

A vizsgálandó oltót először is megvizsgáljuk, vajjon nem szolgálat-e színes oldatot, vagy olyan folyadékot, amelyből sok üledék válik ki. Ha az oltó e tekintetben nem kifogásolható, megvizsgáljuk, hogy megtartja-e legalább néhány órán keresztül állandó értékű megalvasztó-tehetségét? Az előbbi kívánságot általában az olyan oltó elégíti ki, amely rosolsav-indikátor használata mellett lúgos kémhatást nem mutat. Azt is meg kell vizsgálni, hogy a kérdéses oltó különböző eredetű borjúgyomor kivonattal vagy oltókészítményekkel összehasonlítva, a megalvadás és a kazein emésztésének folyamata tekintetében párhuzamosan növekvő, vagy csökkenő értékeket ad-e? Legelőször is 1⁰/₀-os oldattal végezzük az alább leírt emésztő kísérletet, hogy annak alapján nagyjában tájékozódhassunk az oltókészítmény erősségéről. Ennek alapján kiszámítjuk, hogy mekkora az az oltókoncentráció, amely annyi kazeint emészt meg, hogy szűrletében a Kjeldahl szerint ammóniává átalakított nitrogén körülbelül 26·5 cm³ ¹/₁₀ normál sósavat telítsen. Ha ez megtörtént, akkor az összehasonlításra szolgáló borjúgyomoröntelégeket is annyira hígítjuk, hogy oltóhatásuk a vizsgálandó készítményünkkel megegyezzek és valamennyivel újból végzünk megalvasztó- és emésztő-kísérleteket. Ha a különböző összehasonlításra használt oltókivonathoz és a vizsgálandó készítményhez az emésztő- és a megalvasztó-értékek párhuzamosan növekednek vagy csökkennek, akkor a beállítandó oltóenzimmel még néhány új kísérletet hajtva végre, pontosan kiszámítjuk azt az értéket, vagyis az oltónak azt a mennyiségét, amely az emésztő-kísérlet során pontosan 26·5 cm³ ¹/₁₀ normál sósavval telíthető ammóniát szolgáltat és 1⁰/₀-os oldatban 1 : 100,000 mennyiségben alakítja át a kazeint parakazeinné. A számítást a gyökszabály² segítségével végezzük és ha a talált emésztési szám a 26·5-től nem tér el 1·5 vagy legfeljebb 2 cm³-nél jobban, minden bizonnyal megbízható eredményhez jutunk.

¹ Van Dam: Die landwirtschaftliche Versuchstationen 78, 133 (1912).

² A Schütz-Borinow-féle szabály, amely szerint a megemésztett kazein mennyisége az enzimkoncentráció négyzetgyökével arányos.

Eszerint könnyen készíthetünk olyan készítményt, amely 100,000-szeres mennyiségű kazeint parakazeinné alakít át és eközben a szüredékbe annyi nitrogén kerül, hogy a Kjeldahl-meghatározás szerint a kapott ammónia telítéséhez $26.5 \text{ cm}^3 \text{ }^{1/10}$ normál sósav szükséges. Van Dam az értéket nemzetközi egységnek ajánlotta; egyszersmind pedig az úgynevezett *emésztési szám* nevet is forgalomba hozta, ami az előbbieken alapján a szabályos titerű enzimmél 26.5 -nek vehető föl.

Az emésztő-kísérlet végrehajtása. Szűknyakú, 100 cm^3 -es jénai lombikba annyi kazeint mérünk bele, hogy az 0.8 g . vízmentes készítménynek feleljen meg. Eczélből a kazeinkészítményben Kjeldahl szerint meghatározzuk a nitrogént és a 6.37 faktort alkalmazva, számítjuk ki a kazein mennyiségét. Most a lombik folytonos mozgatása közben 100 cm^3 acetátkeveréket adunk hozzá, ügyelve arra, nehogy sok légbuborék keletkezzék a reakciókeverékben. Az acetátkeverék úgy készül, hogy 20 cm^3 pontosan beállított normál eczetsavat és 10 cm^3 szintén pontosan beállított normál nátronlúgot összeöntünk és 70 cm^3 gondosan kifőzött vízzel elegyítünk. Ugyanúgy készítünk elő egy második lombikot. Nagyon lényeges, hogy a lombikban a folyadékön kívül lehetőleg kevés levegő maradjon, mert különben rendkívül sok hab képződik, ami az enzimkoncentráció csökkenését okozhatja. Most mindkét lombikot pontosan 30°C -ig szabályozott folyadéktermosztátba helyezzük és néhány óráig lassan forgatjuk őket, akkora gyorsasággal, hogy percenként az edény körülbelül 12 fordulatot tegyen. Most a reakciókeveréket hagyjuk ülepedni és ha a képződött hab legnagyobb része eltűnt, az egyik lombikba 1 cm^3 30°C -ra melegített oltóoldatot, a másikba pedig 1 cm^3 , előzőleg 10 perczig 90 – 100°C -ig hevített, majd 30°C -ra lehűtött ugyanolyan oldatot juttatunk, azután pedig 24 óráig ismét 30°C -nál lassan forgatjuk az üvegeket. Most megsűrjük a reakciókeveréket és a szüredék 75 cm^3 -ében a nitrogént Kjeldahl szerint meghatározzuk. Szűréshez célszerű aszbeszttel előkészített Gooch-tégelyt használni. Ha a reakciókeveréket szűrés előtt körülbelül 5 perczig hagyjuk ülepedni, a szűrés igen gyorsan, körülbelül 3 – 4 percz alatt befejeződik. A szűrletnek tökéletesen átlátszónak kell lennie.

*Borjúgyomorkivonat készítése.*¹ Szopós borjúnak oltógyomrát levágjuk a bélről és a többi három gyomorrészről; majd a rövidebb oldalán hosszában fölmetszszük és tartalmát kiürítjük. Ezután levágjuk a pylorustájékot, még pedig olyan alaposan, hogy 3 – 4 cm -nyit a nagy barázdával ellátott fundusrészből is eltávolítunk. A többi nyálkahártyát hideg vízzel alaposan kimossuk és ezzel eltávolítjuk a nyálkacszafatokat és a

¹ Abderhalden: Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. III/1 197 I.

nyálkahártyához tapadt minden látható anyagot. Ezután késsel lekaparjuk a mirigyréteget, lemérjük a tömeget és 6—8-szoros mennyiségű 0.2%-os sósavval 24—48 óráig jégszekrényben állani hagyjuk. A szüredék kissé nyúlós, de használható. Ilymódon könnyen jutunk olyan folyadékhöz, a melynek oltó hatása sokkal erősebb, mint az olyan 1%-os oltóoldat, a mely 1 : 100,000 arányban alakítja át a kazeint parakazeinné. Közvetlen használat előtt az ilyen folyadékot $\frac{1}{10}$ normál nátronlúgnak cseppenként való hozzáadásával (indikátorul lakmuszt használva) semlegesítjük. A savanyú kivonat hetekig is eláll a jégszekrényben. Titerfolyadék készítésére azonban ne vegyünk soha ilyen régi kivonatot, mert az ilyen folyadék sokkal érzékenyebb a hidroxilionokkal szemben. Semlegesítés után a folyadékok gyakran zavarosak.

A kazein tisztítása. A titerfolyadék készítésére használt kazeint rendkívül gondosan kell tisztítani. Eczélből 50—60 g. jóminőségű kazeint (Merck- vagy Kahlbaum-félet) 8 liter desztillált vízben szuszpendálunk, turbinával erősen keverjük és eközben $\frac{1}{5}$ normál nátronlúgot csepegtetünk a szuszpenzióba. A vízmentes kazeinra számítva, körülbelül 2.8—2.9 cm³ lúgot fogyasztunk el, amíg (lakmuszt használva indikátorul) gyengén savanyú kémhatást érünk el. Mindig kell meg győződnünk arról, hogy az oldás folyamán a közeg kémhatása állandóan savanyú-e? A gyengén opalizáló oldatot szivattyú segítségével megsűrjük, még pedig úgy, hogy a porcellánszűrőt előbb vízben szuszpendált szűrőpapírdarabkákkal töltjük meg. A folyadékot 2.3 cm. vastag szűrőpapirosrétegen szivatva keresztül, kristálytiszta oldatot kapunk. A kazeinát-oldatból folytonos turbinázás közben most hígított ecetsav hozzácsepegtetése útján a kazeint leválasztjuk. Czélszerű a csepegtetőtölcsér végét a folyadék felszine alá mártani, hogy a habképződést megakadályozzuk, mert ez könnyen beszáradó és elkeményedő kazeinrészecskék alakulására vezetne.

Hogy a kicsapás teljes-e, azt arról ismerjük meg, hogy mikor a turbinát megállítjuk, a kazeinpelyhek gyorsan összezsomósodnak. A csapadék fölött lévő anyalúgnak nem szabad erősen opalizálnia. Most a csapadékot dekantálás útján desztillált vízzel hatszor kimossuk, azután csalánszövetzacskóba öntjük és kicsöpögés után mozsárban lehetőleg egyenletes péppé dörzsöljük szét a tömeget. A mozsárban még egyszer vizet öntünk a kazeinra, dekantáljuk és azután a nátronlúgban oldástól kezdve az egész műveletet még kétszer megismételjük. Legvégül a kazeint nagy mozsárban szét-dörzsölve, dörzsölés közben 96%-os alkoholt csepegtetünk hozzá és ezzel az alkohollal még kétszer vagy háromszor dekantáljuk. A kazeint most gyorsan leszívátjuk, aetherrel dörzsöljük el, aetherrel háromszor dekantáljuk, végül leszívátjuk és szobahőmérsékleten 24 óráig szárítjuk szűrőpapiroson.

Az oltóenzim tulajdonságai.

Az oltóenzim az enzimek általános reakcióit mutatja. Vízben szuszpenziót alkot, kolloidális oldatot, melyből éppen ezért az enzimet porózus csapadékokkal, csontszénnel stb. el lehet távolítani. Állati hártján könnyen keresztül hatol. A telített oldatnak közel megfelelő mennyiségű sót tartalmazó ammoniumszulfátoldat szuszpenziójából kicsapja; éppen úgy a konyhasó is sav jelenlétében. Fuld szerint a mustárolaj olyan anti-szeptikum, amely az oltó hatását csak csekély mértékben változtatja meg.

Az oltó hatása legjobban a melegvérű állati test hőmérsékletének közelében folyik le; így leggyorsabb a hatás 45°C körül, de a kazein átalakulása alacsonyabb hőmérsékleten, még 0°C -on is végbemegy. Alacsony hőmérsékleten a tej megalvadása, tehát a reakció második fázisa kimaradhat, mert a parakazein kicsapódása a különböző hőmérsékleteken rendkívül változó. Az enzim tönkremenésének hőmérséklete nagyon változik a közeg koncentrációja és kémhatása szerint. Legalacsonyabb hőmérsékleten szűnik meg az enzimhatás lúgok jelenlétében, míg a gyöngén savanyú kémhatású közeg jelenlétében lassabban megy tönkre az enzim. A proteinek védőhatása gyakran észlelhető. A különféle eredetű oltóenzimek nagyon különbözőképpen viselkednek. Igen alacsony hőmérsékletet változás nélkül eltűr az enzim; száraz meleg és glicerín nem árt neki. Az ultrabolya-sugarak nagyon ártalmasak az oltó működésére.

Az oltó-hatás optimális közege az olyan ionkoncentráció, mikor $(\text{H}^+) = 10^{-5}$. Ezt az adatot van Dam a tej megalvasztó tehetségére és az emésztőtehetségre nézve állapította meg. Szabad alkáli jelenléte rendkívül káros.

Ha az állatok vérébe oltókivonatot fecskendezünk, azoknak véré-savójában az oltó hatását megakadályozó *antioltó* mutatkozik. Ezzel az érdekes jelenséggel Morgenroth foglalkozott és az antioltó hatását ismert hatású oltókra mennyiségileg meg is határozta. Egy esetben olyan erős antioltót vizsgált, amelynek jelenlétében az oltónak 200-szoros mennyisége tudta csak ugyanazt a hatást kifejteni, mint az antianyag nélkül. Az antioltó rendkívül bomlékony. Működése annyiban különleges, hogy a növényi eredetű oltók hatását nem befolyásolja. Viszont állatok vérébe növény-oltót fecskendezve, olyan antioltót kaphatunk, amely az állati eredetű oltóra hatástalan. Az állati eredetű, különféle antioltók is meglehetősen különleges működést fejtenek ki. A sertés antioltója például hatástalan a borjúoltóra.

A most említett valódi antianyagokon kívül leírtak az állatok véré-savójában normális körülmények között is jelenlevő olyan anyagokat, amelyek az oltó hatását csökkentik. Ezek tehát *természetes paralizátorok* volnának. Sajnos azonban, a sok ellentmondó adat a homályt, amely

ezt a kérdést fedi, még nem tudja eloszlatni. Az észlelt paralizátorok egy része valószínűleg egyszerűen a közeg ionkoncentrációjának megváltozásán mulik. Az adatok más része ismét azért alapszik tévedésen, mert olyan anyagokkal van dolgunk, a melyek egyszerűen a parakazeinnak másodlagos kicsapódását akasztják meg, e szerint az oltóenzim tulajdonképpeni működésével nincsenek összefüggésben.

Az oltóenzim működése és a tej megalvadása.

Az előbbiekből már tudjuk, hogy az oltóenzim a tej kazeinjét parakazeinná alakítja át, még pedig úgy, hogy a legcsekélyebb mennyiségű oltó óriási mennyiségű kazein enzimés átalakítását kiválthatja. Hammarsten szerint az oltókészítmény közelítő számmal kifejezve, súlyának 4—800,000-szeresét tevő kazeinmennyiség átalakítására képes. Ugyanannak az állatfajtának az oltója a saját fajtájából eredő tej kazeinjét könnyebben bontja el és a tejet is gyorsabban alvasztja meg, ami bizonyos faji különlegesség bélyegét adja az enzimnek. Lehet, hogy az oltónak különleges alapanyaga a kazein; de az sincs kizárva, hogy az oltó talán más proteinek is át tud alakítani.

A kazein e szerint hidrolízis útján parakazeint szolgáltat; az utóbbi azonban a tejben jelenlevő mészsók hatására oldhatatlanná válik és az oltó éppen ezért nem hathat reá tovább. Ha mészsók nincsenek jelen, akkor az oltóenzim kiváltotta hidrolízis tovább terjed és alacsonyabbrendű termékek keletkeznek. A jelenség részletesebb megvilágítása céljából első sorban figyelemmel kell kísérnünk, hogy miféle különbségek észlelhetők a kazein és a parakazein között. A két termék elemzési adatai nem különböznek egymástól; foszfortartalmuk is ugyanaz. A parakazein ellenben iszapolt kalciumkarbonátban nehezebben oldódik, mint a kazein. A parakazeinre általában jellemző, hogy valamennyi megvizsgált esetben könnyebben csapódik ki, mint a kazein. E tekintetben legjellegzetesebb az a jelenség, hogy a parakazein már 0.2% kalciumsó jelenlétében és szobahőmérsékleten is kiválik a közegből, ellentétben a kazeinnal, amely csak melegítéskor, vagy igen hosszú idő múlva mutatja ezt a jelenséget.

A parakazeinnak kazeinből való képződése hidrolites jelenség. Ezt legjobban bizonyítja az, hogy a parakazein szűrletében nitrogéntartalmú anyag van, amely nem kazein. Közvetlenül a tejjel végrehajtott kísérletekkel is kimutathatjuk ezt a jelenséget, amennyiben az oltóval kezelt tej savójában sokkal nagyobb az oldott nitrogéntartalmú vegyület mennyisége, mint a savval lecsapott kazein szűrletében. Ugyanezt támogatják azok az észlelések, melyek szerint a parakazeinképződés a rendszer osmózisnyomásának növekedésével és a belső surlódás csökkenésével, enyhe hőfejlődés közben megy végbe. A nagyobb kazeinmolekula tehát

parakazeinná való átalakulása közben kisebb lett. A szüredékben levő oldható vegyület valószínűleg valamelyik albumóz. Sokat nem tudunk felőle; valószínűleg nem is egységes anyag. Vizsgálatát megnehezíti az a körülmény, hogy a jobban megvizsgált különféle esetekben a kazeinnak átalakulása nem áll meg a parakazein + albumóz rendszernél, hanem az oltó további hatása alatt rendkívül bonyolult reakciókeverék létesül.

Ha már most a parakazein kicsapódását akarjuk jobban megvilágítani, nagy nehézségekkel találkozunk. Egyes jelenségek a kutatókat arra a véleményre készítették, hogy a kalciumionok jelenléte a parakazein kicsapódásakor nélkülözhetetlen feltétel. E mellett szól például az a megfigyelés, hogy a kalciumtól mentes kazein-oldatok az oltó hatására csak akkor alvadnak meg, ha kalciumchloridoldatot keverünk a folyadékba és hogy a kalciumchlorid a közönséges tej megalvadását is gyorsítja, ellenben az oxálsavval kezelt tejben a parakazein kicsapódása kimarad.

Azonban van Dam, aki a kalciumvegyületek hatásának mibenlétét a parakazein kicsapódása során igen alaposan tanulmányozta, arra az eredményre jutott, hogy az előbbi nézettel ellentétben nem a kalciumionok, hanem éppen a kazeinhez kötött kalcium mennyisége döntő hatású. Ha a tejhez kalciumchlorid-oldatot keverünk, a sónak csak egy része marad meg kalciumion alakjában, ellenben körülbelül 50%-át a kazein megköti. Ezt úgy lehet bebizonyítani, hogy a folyadékot porcellánszűrőn keresztülszívátva, a hozzáadott kalciumnak 50%-a benne marad a szűrőben. Van Dam szerint az oxálsavval kezelt tejnél a parakazein kicsapódásának elmaradását szintén másképpen kell magyaráznunk. Tapasztalása szerint ugyanis, ha a tejet annyi oxálsavval elegyítjük, amennyi a jelenlevő összes kalcium kicsapódásához elegendő volna, a jelenlevő kalciumnak mégis csupán 25%-a csapódott ki. Ha a szüredéket porcellánszűrőn megszűrte, a kalcium zöme abban akadt meg. Eszerint annak dacára, hogy 75% oldott kalciumsó volt jelen a tejben, a parakazein kicsapódása mégis elmaradt. Vagyis a tej megalvadásában éppen a kolloidális alakban megkötött kalciumnak van jelentős szerepe. Újabb munkáiban Bang sem tulajdonít már az oldható mészsóknak akkora jelentőséget és a tej megalvadásában vezető szerepet vivő só a kalciumfoszfátban keresi. Akárhogyan vesszük is a dolgot, ezen a téren még igen sok a homály és az érthetetlen, kellőleg föl nem derített jelenség.

A thrombáz (thrombin, fibrinenzim).¹

Az enzimek chemiai kutatásának egyik leghomályosabb része az, a mely a vér megalvadásával, illetőleg a thrombázal foglalkozik.

¹ Morawitz P.: Abderhalden's Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, V. k., 223 l.

A vér megalvadása a tej megalvadásához abban hasonlít, hogy mindkettőnél két fázisban lefolyó változással van dolgunk. Az első fázis ez esetben az összes folyamatokat képviseli, amelyek a vérsavóban levő fibrinogén nevű proteinnek fibrinné való átalakulását előkészítik. A második fázis a fibrinogénnek fibrinné való átalakulása, amely egyúttal a megalvadáshoz vezet. Míg a tej megalvadásakor senki sem vonta kétségbe az oltó enzim-voltát, addig a vér megalvadásának jelenségéről eltérők a vélemények. Némelyek az egész jelenséget kolloidok kölcsönös kicsapódására vezetik vissza és nem is tekintik enzim-hatásnak. Megkísérlem a megalvadásra vonatkozólag manapság divó nézeteket röviden vázolni.

Schmidt A.¹ szerint a vér megalvadása enzimes természetű változás; első fázisa pedig azokból a folyamatokból tevődik össze, amelyek a fibrinenzim keletkezését előidézik. Az állati testben keringő vér úgyszólván semmi, vagy csak minimális mennyiségű enzimet tartalmaz, miért is a testben a vér nem alszik meg. Ha azonban a vér nedvesíthető idegen anyagokkal érintkezésbe jut (például üvegedény, vagy a véredény fala): olyan változások állanak elő, amelyeknek eredménye a thrombáz létesülése. Hogy miben állanak ezek a változások, arra vonatkozólag maga Schmidt is többször megváltoztatta nézeteit és az egész elmélet még a mai napig sem teljesen kiforrott.

E szerint a fibrinenzim létesülésében résztvesznek a vérnek sejtjes elemei és a szövetnedvek. A fibrinenzim csak akkor keletkezik, ha a vérsavóban jelenlévő zymogén, a *prothrombin* sejtjes elemekkel (legvalószínűbben színtelen vérsejtekkel) lép benső összeköttetésbe. Idegen anyagokkal, üveg stb. való érintkezés alkalmával a sejtekben lévő, úgynevezett *zymoplasztikus anyagok* a vérsavóban jelenlévő prothrombint hatásos thrombinná alakítják. A zymoplasztikus anyagokhoz hasonlóképpen a vér lúgosságának növelése is alkalmas a prothrombinnak thrombinná való átalakítására.

Arthus² és Pagés³ nemsokára fölfedezték a kalcziumsók jelentőségét és kimondották, hogy kalcziumsó nélkül nincsen vérmegalvadás. Hammarsten⁴ azután kimutatta, hogy ionizált sók jelenléte a megalvadás folyamatának első fázisában nélkülözhetetlen, mert a prothrombin csak ezek jelenlétében alakulhat át hatásos thrombinná. A második fázis, a fibrinogénnek fibrinné való átalakulása thrombáz hatására már kalcziumsók jelenléte nélkül is megtörténhetik.

¹ Schmidt Alexander: Zur Blutlehre, Leipzig, 1892. és Weitere Beiträge zur Blutlehre, Wiesbaden, 1895.

² Arthus: Recherches sur la coagulation du sang; Thèse de doctorat, Paris, 1890.

³ Arthus és Pagés: Archiv de Physiologie 22, 739 (1890.) 1.

⁴ Hammarsten: Zeitschrift f. physiolog. Chemie 22, 333 (1896.) 28, 98 (1889.) 1.

A kétféle megfigyelés, illetőleg elmélet azonban az újabb kutatók szerint összeegyeztethető. Kiderült, hogy a vér savójában valóban van egy zymogén, amely a Schmidt-féle prothrombinnak felel meg. Ezt az anyagot Morawitz és Nolf *thrombogénnek* nevezték el. Hogy ebből thrombáz legyen, ahhoz szükséges, hogy a vér sejtés elemeiből eredő, úgynevezett *thrombokinázzal* lépjen összeköttetésbe. Az utóbbit nem lehet csak úgy egyszerűen a Schmidt-féle zymoplasztikus anyagokkal azonosítani, amennyiben a thrombokináz enzimtermészetű; vegyi és hőhatásokkal szemben rendkívül érzékeny, míg a Schmidt-féle zymoplasztikus anyagok alkoholban oldhatók és a forrás hőmérsékletét is kibírják.

E szerint a thrombáz létesülését olyképpen kell képzelnünk, hogy a vér savójában a thrombogén nevű zymogén van jelen ionizált kalcziamsók kíséretében. Ha a vér elhagyja a véredényeket és sejtés elemei idegen, nedvesíthető anyagokkal érintkeznek, thrombokináz szívárogi ki a sejtés elemekből és akkor a három anyag: thrombogén + kalcziamsó + thrombokináz kölcsönhatása következtében thrombáz jön létre.

Vannak szerzők, akik a thrombáz létesülését még bonyolultabban összejátszó tényezők kölcsönhatásának tudják be; ezekkel azonban nem foglalkozunk, mert az úgyis zavaros fogalmakat még érthetlenebbekké teszik.

Legújabban sokan teljesen tagadják a vér megalvadásának enzimes eredetét. Ezt az álláspontot először Wooldridge,¹ újabban Nolf² fejtette ki. De ezek a kutatók is megegyeznek abban, hogy a vérsavóban valami + kalcziamsó van jelen és ez a valami egy másik valamivel, ami ismét a vér sejtés elemeiből kerül elő, olyan anyagot szolgáltat, hogy jelenlétében a fibrinogén kicsapódik. Tulajdonképpen tehát más nevekkal terhelve meg az irodalmat és a kutatók emlékeztétét, azután meg más okokra vezetve vissza a jelenséget (egyszerűen a kolloidok kölcsönös kicsapására), a kérdést ők sem tisztázták.

A fibrinogénnek magának fibrinné való átalakulásáról, tehát a folyamat második fázisáról úgyszólván semmit sem tudunk. Lehet, hogy az átalakulás hasonló ahhoz, amelyet a kazeinnek parakazeinné való átalakulása alkalmával láttunk. Egyelőre azonban ezen a téren semmi elfogadható ismerettel sem rendelkezünk.

Thrombázoldatok előállításáa.

Legegyszerűbben úgy kaphatunk thrombázoldatot, ha a vér savójából indulunk ki. Ennek thrombáztartalma változó és meglehetősen csekély; vért megalvasztó tulajdonsága néhány napi állás után még jobban csökkenik. A vérsavó csekély thrombáztartalma két okra vezethető vissza.

¹ Wooldridge: Die Gerinnung des Blutes, Leipzig, 1891.

² Nolf: Archiv internationale de Physiologie 6, 1. füzet (1908.).

Egyrészt a vér megalvadásakor keletkező fibrin az enzimnek nagy részét adszorbeálja, másrészt pedig a vér megalvadása után a thrombáz hatástalan módosulattá, úgynevezett *metathrombázzá* alakul át. A metathrombázt azonban könnyen tehetjük újból hatásossá, ha a vérsavót egyenlő térfogatú $\frac{1}{10}$ normál nátronlúggal elegyítjük és $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ órai állás után $\frac{1}{10}$ normál kénsavval újból közömbösítjük. Ha a savót előbb dialízisnek vetjük alá, akkor a metathrombáznak thrombázzá való átalakítása még könnyebb és sokkal kevesebb: $\frac{1}{10}$ vagy $\frac{1}{5}$ annyi nátriumhydroxiddal is sikerül.

Schmidt szerint proteinben lehetőleg szegény thrombázoldatot olyképpen állíthatunk elő, hogy nagyobb mennyiségű vért önként megalvadni hagyunk, majd a savót sajtolás útján kitermeljük és hússzoros mennyiségű alkohollal kicsapjuk. Az alkohol alatt több hónapig is állhat a csapadék, anélkül, hogy a benne lévő thrombáz hatásosságát elveszítené. A csapadékot az alkoholtól szűrés útján választjuk el, megszáritjuk és vízzel való, rövid ideig tartó kioldásnak vetjük alá.

Howell¹ thrombázoldat előállítására a fibrin adszorbeálta thrombáz kivonását használja fel. Eczélből nagyobb mennyiségű sertésvér fölverése segítségével termelt fibrint áramló vízben addig mosunk, míg teljesen szintelen, vagyis haemoglobintól mentes lesz. — Amíg ezt elérjük, több óra telik el és a tömeget időnként kézzel gyúrva, a teljes kimosást elősegítjük. A fibrint most 8%-os konyhasóoldatban lehetőleg jól szétosztatjuk és 2—3 napig hagyjuk jég szekrényben állani; majd pedig szűrőszöveten, végül szűrőpapíron megsűrjük. Az erélyes thrombázhatású, zavaros folyadékot a proteinek eltávolítása végett félakkora térfogatú chloroformmal többször összerázzuk, majd megsűrjük, mikor is a protein-csapadék a chloroformmal a szűrőn marad vissza. Ezt a műveletet addig ismételjük, amíg a szüredék átlátszó és felfőzés alkalmával csapadék már nem képződik. Hosszadalmas munka árán így teljesen átlátszó és még eléggé hatásos thrombázoldatot készíthetünk. Hogy hatásosságát el ne veszítse, czélszerű 5—10 cm³-nyi adagokat 35—40 C⁰-os hőmérsékleten, óraüvegen lehetőleg gyorsan beszárítani és használat előtt a beszárításkor kapott maradékot vízzel eldörzsölni.

Fibrinogéntartalmú folyadékok előállítása.²

A Hammarsten-től eredő és Nolf módosította eljárást, amelynek elve, hogy a vérsavóból a fibrinogént konyhasóval könnyebben kisózhatjuk, mint a többi proteint: a fibrinogéntartalmú folyadékok előállítására jól

¹ Howell: American Journal of Physiology 26, 7 (1910.) 1.

² Hammarsten: Zeitschrift für physiologische Chemie 22, 333 (1896) 1.; Nolf: Archiv internationale de Physiologie VI, 1. füzet 3 1. (1908); Heubner: Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 49., 229 (1903) 1.

alkalmazhatjuk. Ha a kicsapást többször megismételjük, akkor aránylag tiszta fibrinogént kaphatunk.

Legcélszerűbb a lóvérből kiindulni. A lóvágóhídon leölt állat véréből a sebből egyenesen nátriumoxalat-oldatba folytatjuk. Az oxalatból annyit kell vennünk, hogy a folyadékban a só mennyisége 0.2—0.5% legyen. Ha tehát pl. 5 liter lóvért akarunk földolgozni, akkor azt 500 cm³ 2—3%-os nátriumoxalatoldatba csurgatjuk bele. Ilyen állapotban a vér nem alszik meg. A feldolgozással azonban nem szabad késnünk és amint lehetséges, a vért centrifugáljuk, s így 0 C°-on 800—900 cm³ savót gyűjthetünk össze. A savót most körülbelül egy éjjelre jégszekrénybe helyezzük. E közben csapadék válik ki, amely a thrombáz zymogenjét tartalmazza, miért is eltávolítása fontos. A hideg savót leszűrjük, kevés hígított ecetsavval (indikátorul lakmuszt használva) semlegesítjük és annyi kalciumtól mentes konyhasóval elegyítjük, hogy a folyadék faj-súlya 1.110 legyen. Ekkor a fibrinogén könnyen összecsomósodó nagy pelyhekben leválik. Ezt az anyagot kanállal vagy szitával a szérumtól elkülönítjük és 800—900 cm³ vízbe teszszük, amelyben nyomokban nátriumoxalat, csekély mennyiségű konyhasó és 5 cm³ tömény szóda-oldat van oldva. A csapadék rendesen könnyen oldódik fel; a folyadékot megsűrjük és lakmuszindikátor jelenlétében híg ecetsavval közömbösítjük. Ha ekkor könnyű pelyhes csapadék képződik, azt szűrőszöveten leszűrjük.

A szűrletet lehűtjük és éppen úgy, mint előbb leirtuk, konyhasóval kicsapjuk. A kapott csapadékot most már kevesebb, 400—500 cm³ vízbe viszszük át és éppen úgy kezeljük, mint az előbb. A csapadékot olyan vízben, amelyben már nátriumoxalat nincsen, ismét feloldjuk, különben pedig az előbb leírt körülmények között ismét kicsapjuk. Az így kapott terméket 150—300 cm³ vízbe teszszük, amelyhez 4—6 csepp szóda-oldatot öntöttünk. Ezután annyi konyhasót adunk a keverékhez, hogy a sótartalom körülbelül 1% legyen és 0 C°-nál másnapig pihentetjük, majd pedig tiszta vásznon keresztűlsűrjük. Egy liter savóból körülbelül 150—500 cm³ fibrinogénoldatot termelhetünk. Annak dacára, hogy ez a tisztító-eljárás igen veszteséges, a folyadék használatra túlságosan tömény, miért is kísérlet előtt 1%-os konyhasóoldattal öt- vagy tízszeres térfogatra hígítjuk fel. Azonban néha a legnagyobb elővigyázat mellett is megeshet, hogy a fibrinogéntartalmú folyadék önként megalszik; más esetben a megalvadás ugyan nem következik be magától, de kalciumsó hozzáadására, vagy pedig kalciumsó és szövetkivonat együttes hatására alvad meg. Az ilyen folyadék nem alkalmas thrombáz kimutatására. Jó fibrinogénoldatnak csakis thrombáz hozzáadására szabad megalvadnia.

Fibrinogéntartalmú oldat gyanánt némelykor természetes izzadmányokat is használhatunk. Ezekben azonban gyakran vannak jelen a

fibrinenzim hatását paralizáló anyagok, miért is kisebb enzimmennyiségekkel szemben a megalvadásnak ellentállanak.

Valamennyi semleges só kellő töménység esetében lassítja, vagy megakasztja a fibrinogénoldat megalvadását. Éppen ezért a sókkal előkészített vérsavó alkalmassá lesz a fibrinenzim kimutatására.

A gyakorlatban többször alkalmazzák a nátriumoxalátot, amely a vérhez keverve, már 1⁰/₁₀₀ mennyiségben is megakadályozza a vérsavó önkéntes megalvadását. Az ilyen savó kalciumsó hozzáadására, vagy pedig kellő mennyiségű thrombin jelenlétében megalvad. Szövetnedvek az oxalátplazmában nem idéznek elő megalvadást.

Vannak módszerek, amelyeknek segítségével a vérsavó megalvadását ideig-óráig minden szer nélkül megakadályozhatjuk. Így, ha a vért attól a pillanattól fogva, hogy a véredényt elhagyta, portól mentes, belülről paraffinréteggel bevont edényben centrifugáljuk, olyan savót kaphatunk, amely azután alkalmas a fibrinenzim tanulmányozására, mert önmagától nem alvad meg. Megjegyzem, hogy az ilyen savó készítéséhez rendkívül nagy gyakorlat szükséges és még akkor sem mindig sikerül. A madarak, továbbá az alacsonyabbrendű állatok vére az üveggel való érintkezés hatására nem annyira érzékeny, mint az emlős állatok vére, miért is különösen ezek az állatok szolgáltathatnak olyan plazmát, amely önként nem alvad meg.

Állíthatunk elő olyan vérsavót is, amely azért nem alvad meg, mert benne a megalvasztást megakasztó anyagok vannak jelen. Ilyen pl. az a vérsavó, amelyet akkor kapunk, ha a kutya vérébe testsúlykilogrammonként 0.3 g. Witte-peptont fecskendezünk. A befecskendezés után nemsokára kivett vér sokszor hosszú ideig ellentáll a megalvadásnak. Hasonló mód az, amikor a pióczák fejében előforduló *hirudin* hatását használjuk fel arra, hogy a vér megalvadását meggátoljuk.

Azonban, hacsak tehetjük, a thrombáz kimutatására használjunk lehetőleg paralizátortól mentes tiszta fibrinogénoldatot, mert az ilyen oldat minimális thrombázmennyiségre reagál, míg a többi esetben a thrombáznak ismeretlen mennyisége használódik fel ahhoz, hogy a jelenlevő paralizátor hatását ellensúlyozza.

A thrombáz sajátosságai.

A Howell-féle készítmény a proteinek összes tulajdonságait mutatja, a Millon-reakció kivételével, továbbá foszfortól mentes. A tiszta oldat rövid felfőzést eltűr, ellenben hosszabb ideig tartó 40 C⁰-ra való melegítés már káros hatású. Az enzimet a konyhasó jelenléte némileg megóvjja. A thrombáz hatásának optimuma körülbelül 40 C⁰. Frissen lecsapott kalciumfoszfát, továbbá fibrin a thrombázt nagy mértékben adszorbeálja.

A vér megalvadás-idejének meghatározása.

Azt az időt, amely addig eltelik, amíg az erekből kicsepegő vér a kicsepegés pillanatától számítva, megalszik, a *vér megalvadás-ideje*-nek nevezzük. Mivel ez az idő rendkívül változó érték, a megváltoztató körülményeket szükséges szem előtt tartani, mert máskülönben hasznavehetetlen eredményeket kapunk. Azt sem szabad elfelejtenünk, hogy összehasonlítani csakis az ugyanazzal a módszerrel kapott eredményeket szabad, mert abszolút módszerrel nem rendelkezünk. Még ugyanazzal a módszerrel is csak nagy gyakorlat után érhetünk el jó eredményeket, miért is tanácsos, hogy a választott módszer kísérleti kivitelére mindenki normális vérral hosszabb ideig végezzen előgyakorlatot, mert különben teljesen megbízhatatlan eredményeket fog kapni.

A megalvadás idejét rendkívül befolyásolják elsősorban a nedvesíthető idegen anyagok, még pedig a felületük nagyságának egyenes arányában. Éppen ezért nagyobb vérmennyiség sima és kicsiny edényben lassabban alszik meg, mint nagy és érdes felületű, vagy esetleg piszkos (poros) edényben. Ez okból a vizsgálatot mindig egyenlő vérmennyiséggel, teljesen egyenlő nagyságú és a végletekig menő gondossággal (vízzel, alkohollal, aetherrel) kimosott, portól mentes edényekkel végezzük.

Tekintve, hogy a megalvadás ideje a hőmérséklettel nagyon változik, különösen pedig ama hőmérsékleti határokon ($15-20^{\circ}\text{C}$) belül, amelyek éppen a szobahőmérsékletnek szoktak megfelelni, gondoskodni kell a kísérletek folyamán a hőmérséklet teljes állandóságáról.

Mivel a vérhez jutott mindennemű élő vagy holt szövetrészt, továbbá már megalvadott vér a vér megalvadását gyorsítja, amikor csak lehet, véna-átfúrás útján veszünk vérpróbát, nehogy a vér a környező megsértett szövetekkel való érintkezés után kerüljön csak vizsgálat alá. Ha ez nem lehetséges, lanczettával olyan sebet ejtünk az egyénen, hogy a vér minden külső nyomás nélkül, lehetőleg gyorsan csorduljon a felfogó edénybe. Olyan sebből, amelyben már a megalvadás megkezdődött, ne vegyünk vért, mert ez sokkal gyorsabban alszik meg a normálisnál. Ugyanez áll a kanüllel vett vérpróbákra is. Egy kanüllel csak egy vérpróbát vehetünk, s jó, ha mindig teljesen használatlan és rendkívül gondosan megtisztított kanült alkalmazunk.

A megalvadás idejének meghatározásakor a vér széndioxidtartalma sem közömbös, ami különösen a lekötött vénákból vett vérpróbák vizsgálatain esetén jut érvényre.

Hogy helyesen végeztük a vizsgálatot, azt megtudhatjuk az eredményből; mert ugyanazon egyén testének különböző pontjain kivett vérpróba, kellő gyakorlat mellett, összevágó értékeket ad.

A megalvadás idejének meghatározására nagyon sokféle módszert dolgoztak ki, de úgyszólván egyik sem jó, mert a módszer hibaforrásaitól eltekintve, az egyéni hibák elkövetésének a lehetősége is igen nagy. Ezért tehát csak egynek leírását adom, amely az egyén kísérletező képességétől aránylag a legfüggetlenebb.

A módszert Kottmann¹ ajánlotta és a készüléket, amely a meghatározáshoz szükséges, *kagulooviszkoziméternek* nevezte el. A módszer elve a következő: Ha folyadékkal telt edényt merőlegesen álló tengely körül forgatunk, akkor az edény falához legközelebb eső periferikus folyadékrétegek ugyanilyen mozgásba jönnek. A folyadék mozgása a külső rétegektől befelé haladólag terjed a tengely felé, még pedig gyorsabban, vagy lassabban, aszerint, hogy a folyadék viszkozitása milyen? A folyadék közepére helyezett lapátocska, amelyet úgy szerelünk oda, hogy nem vehet teljesen részt a forgó mozgásban, elmozdul. Ez az elmozdulás annál nagyobb, mennél gyorsabb a folyadékkal telt edény forgás-sebessége és mennél nagyobb a folyadék viszkozitása. A készüléken elhelyezett mutató jelzi a lapát elmozdulását. Mivel megalvadás közben a vér viszkozitása rendkívül növekszik, a mutató elmozdulása jelzi azt az állapotot, amikor a vér megagszik. Az edény forgatását állandó sebességgel végezve, igen jó eredményeket érhetünk el.²

A fibrin-enzim és a fibrinogén mennyileges meghatározása.³

A vér megalvadó képességének meghatározására régebben csakis időmódszereket alkalmaztak, vagyis valamennyinek alapja az volt, hogy meghatározták azt az időt, amely ahhoz szükséges, hogy a friss vérpróba megalvadjon. Hasonló módszer segítségével azonban nem vezethetjük le az enzim működésének szabályát, még kevésbé lehet a megalvadás idejéből az enzim mennyiségére következtetni. Legújabban Wohlgemuth dolgozott ki olyan eljárást, amelynek segítségével a fibrin-enzim és a fibrinogén mennyiségét aránylag egyszerű módon meghatározhatjuk.

A fibrin-enzim mennyiségi meghatározása. Ha az érből kibocsátott friss vért üvegbottal fölverjük és ezzel fibrinjétől megfosztjuk, akkor a vér savójában, amelyet centrifugálással állítunk elő, bizonyos mennyiségű fibrin-enzim van jelen. Az enzim mennyiségének meghatározására a friss vérsavóból lefelé haladó geometriai sorozat szerint próbákat veszünk.

¹ Kottmann: Zeitschrift für klinische Medizin, 69, 415 (1910.) 1.

² A készülék a Schaerer M. cégnél kapható (Bern, Bubenberplatz), ára 475 frank. — Aki a vér megalvadás-idejének megállapítására szolgáló egyéb módszereket is ismerni akarja, annak ajánlom Morawitz P. tanulmányát (Abderhalden: Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, V. kötet, 231 l.).

³ Wohlgemuth J.: Biochemische Zeitschrift, 25, 79–88 (1910) 1.

Miután valamennyi próbacső tartalmát kalciumsótól mentes 1%-os konyhasóoldattal egyenlő térfogatra egészítettük ki, mindegyik próbához 2 cm^3 magnéziumszulfátplazmát keverünk. Az utóbbi úgy készül, hogy kutya vagy házinyúl carotisából 3 rész vért 1 rész 25%-os magnéziumszulfátoldatban fölfogunk. A tömeget erősen lehűtve, jól összerázzuk, majd centrifugálás útján a plazmát a vérsejtektől elkülönítjük. Az így készült plazma jégszekrényben hetekig is eltartható anélkül, hogy fibrinogéntartalma számbavehetően csökkennék. A próbákat, amelyek fibrin-enzimet, konyhasóoldatot és magnéziumszulfátplazmát tartalmaznak, 24 óráig jégszekrénybe helyezzük és a csöveket óvatosan rézsut hajlítva, összerázás nélkül megvizsgáljuk, hogy melyik próba mennyire alvadt meg.

Megfigyelhetjük, hogy a sok savót tartalmazó próbák teljesen megalvadtak; ezek után következik néhány cső, amelyben a megalvadás folyton csekélyebb, végül van olyan is, amelyben csak nyoma van az alvadéknak. Például szolgáljon a következő kísérletsorozat:

A próba sorszám	Savó- mennyiség cm^3 -ben	Magnézium- szulfát- plazma cm^3 -ben	Jégszekrényben való 24 órás állás után a megalvadás
1	1·0	2·0	teljes
2	0·5	2·0	teljes
3	0·25	2·0	teljes
4	0·125	2·0	teljes
5	0·062	2·0	csaknem teljes
6	0·032	2·0	részleges
7	0·016	2·0	csekély
8	0·008	2·0	csak nyomokban
9	0·004	2·0	—

Az a próba, amelynek tartalma a megalvadásnak még biztosan fölismerhető nyomait mutatja, esetünkben tehát a 8. sz. próba szolgálhat a kérdéses savó fibrin-enzimtartalmának kifejezésére. Ez az adat: a $0·008\text{ cm}^3$ szérum szolgál egységül. Az 1 cm^3 -t a talált egységgel elosztva, megkapjuk azt a számot (esetünkben 125), amely az 1 cm^3 savóban foglalt fibrin-enzimegységet fejezi ki. Ezt a számot Wohlgemuth az F_f jellel jelöli meg. A fölhozott példában tehát

$$F_f = 125.$$

A fibrinogén mennyiségi meghatározása. A meghatározás kiviteléhez a fibrinogénoldatra és egy hatásos fibrin-enzimoldatra van szükség. Az előbbi úgy állítjuk elő, hogy a véredényből frissen kivett vér 3 cm^3 -ét 1 cm^3 magnéziumszulfátoldattal keverjük és a tömeget gyorsan centrifugáljuk. Az így termelt plazma a vérpróba összes fibrinogénjét tartal-

mazza. Fibrin-enzimoldatként a frissen kibocsátott, defibrinált és centri-fugált vért használjuk.

A magnéziumszulfátplazmából lefelé haladó geometriai sorrendben próbákat veszünk, 1%-os konyhasóoldattal egyenlő térfogatra egészítjük ki őket, majd a fibrin-enzim 10-szeresen hígított oldatának 1 cm³-ével elegyítjük. Most valamennyi próbát jégszekrénybe helyezve, 24 óra múlva megvizsgáljuk, hogy mely csövekben alvadt meg a próba, melyekben nem? Rendszerint a sorozat első két próbájában, amelyekben legtöbb a plazma, nem áll be megalvadás, mert a jelenlévő magnéziumszulfát nagy mennyisége az enzimhatást megakasztja. A kísérletsorozatról jó képet ad a következő példa:

A próba száma	Magnézium-szulfát-plazma cm ³ -ben	Fibrin-enzimoldat 1:10 cm ³ -ben	Jégszekrényben való 24 órás állás után a megalvadás
1	1·0	1·0	—
2	0·5	1·0	—
3	0·25	1·0	csekély
4	0·125	1·0	teljes
5	0·062	1·0	teljes
6	0·032	1·0	részleges
7	0·016	1·0	csekély
8	0·008	1·0	—
9	0·004	1·0	—

A fibrinogéntartalom kiszámítására azt a próbát használjuk, amelynél még biztosan észrevehető a megalvadás; esetünkben ez a 7. sz. próba. Az ebben foglalt plazmamennyiség 0·016, tehát ez esetben ez az egység. Hogy összehasonlító adatokat kaphassunk, avégből tudnunk kell, hogy ez az egység hányszor van meg 1 cm³ plazmában, vagyis ki kell számítanunk az $\frac{1}{0·016}$ tört értékét. Ez a fenti példában 62·5. Wohlgemuth ezt a számot röviden az F_g szimbólummal jelöli, tehát esetünkben

$$F_g = 62·5.$$

III. Oxidázok (oxidáló enzimek).

Az oxidázok jelentősége a növények és állatok életfolyamataiban rendkívül nagy; hiszen a felvett táplálékanyagok elégetése és a bennük rejlő energiakészletek felszabadítása tulajdonképpen az oxidázok munkája. Az is feltűnő, hogy az élő szervezetben olyan anyagok oxidációja folyik le aránylag alacsony hőmérsékleten, amely anyagok más-különben a vegyész oxidáló szereinek csak magas hőmérsékleten hódolnak meg. Bármennyire érdekünk volna is éppen az oxidázokat és működésüket

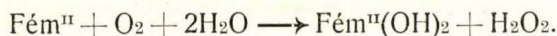
jól ismerni, hogy az említett folyamatok mélyére hatoljunk, sajnos, ezen a téren különösen sok még az érthetetlen és zavart okozó, ellentmondó adat és a belőle levont következtetés. Ez könnyen érthető is, mert a kísérletezőnek nagy nehézségekkel kell megküzdenie és a közvetlen ok és okozati összefüggést a sokféle, egymás mellett lefolyó reakció között megkeresni nem sikerül, vagy pedig ferde képhez jutunk. Éppen ezért az oxidázok működésének magyarázatait, annak dacára, hogy némely esetben meglehetősen megvilágítják a lefolyó jelenségeket, nem tekinthetjük befejezeteknek.

Az oxidázok hatására gyorsuló folyamatok teljesen különböznek azoktól az oxidációktól, amelyeket az *égés* néven ismer a chemia. Éppen ezért ezeket az oxidációkat az úgynevezett *lassú égés* névvel jelölték meg. A kifejezés azt akarja mondani, hogy itt az oxidáció külső energia hozzájárulása nélkül történik, tehát nem úgy, mint a közönséges égés esetében, mikor az anyagot a meggyulás hőmérsékletére melegítjük. Ezenkívül az oxidáció maga is úgy folyik le, hogy a reakcióterben nem észlelhetünk nagyfokú fölmelegedést.

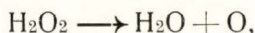
Az oxidázok működése kétféleképpen történhetik aszerint, hogy az oxidálást a levegő szabad oxigénjének rovására végzik, vagy pedig az oxigént lekötött alakjából előbb fölszabadítják és ezt a fölszabadított oxigént fordítják azután az anyag oxidációjára.

A levegő oxigénjével való oxidálást sem magyarázhatjuk meg egykönnyen. Hiszen azok az anyagok, amelyek az oxidázok hatására oxidálódnak, magának a levegő oxigénjének a jelenlétében rendszerint nem változnak. Eszerint az oxidázok szerepe tulajdonképpen abban áll, hogy a különben ártatlan oxigéngázt hatásossá teszik. Hogy miben rejlik már most ez a hatásossá tétel, az ismét igen fogas kérdés. Schönbein a közönséges oxigénnek ózonná való átalakulására gondolván, ózonképződéssel igyekezett a levegő rovására végbemenő és az élő szervezetben lefolyó oxidációs reakciókat magyarázni. Ez az elmélet hamar tarthatatlannak bizonyult, egyrészt azért, mert az ózont sohasem sikerült az élő szervezetben kimutatni, másrészt pedig, mert a kísérletek beigazolták, hogy az ózon sejtet ölő mérég. Hoppe-Seyler azt az észlelést véve alapul, hogy az élő szervezetben a szövetek között erélyes redukáló hatások is játszódnak le, az oxigén hatásossá tételét úgy magyarázta, hogy e redukáló hatások következtében az oxigénmolekulák szabad oxigénatomokká bomlanak szét. Ennek az elméletnek szintén megvan a maga Achilles-sarka: azt a körülményt, amit Hoppe-Seyler föltételez, nem érthetjük meg; nevezetesen, hogy a szétbomlott oxigénmolekulából létesült oxigénatomok közül a redukció alkalmával miért csak az egyik létesít a hidrogénnel vizet és miért oxidálja a másik oxigénatom a különben nehezen megtámadható anyagot?

Az oxidázok működésének magyarázata körül nagy jelentősége volt Traube ama nézetének, hogy a szabad oxigéngáz és a víz együttes jelenlétében megfelelő anyagok hatására az oxigén aktívva lesz. Ha föltételezzük például, hogy valamely kétvegyértékű fémrel van dolgunk, akkor nem lehetetlenség a következő vegyfolyamat:



A létesült hidrogénszuperoxid katalitikus hatásra ismét elbomolhat:



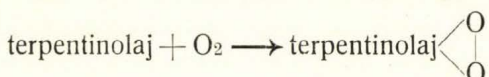
amely esetben már hatásos oxigén keletkezik.

A Traube-féle elmélet azért jelentős, mert megalapozta az oxidázok működésének magyarázatára manapság leginkább elfogadott Engler-, illetőleg a Bach- és Choda-féle elméleteket.

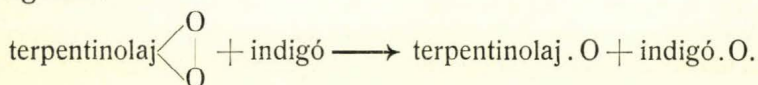
Ez elméletek szerint az élő szervezetben könnyen átalakítható telítetlen vegyületek vannak, amelyek alkalmasak arra, hogy az oxigénmolekulákkal peroxidtermészetű anyagokat létesítsenek. A folyamatot megelőzné az oxigénmolekuláknak az



egyenlet szerint való elrendeződése. A fölszabaduló oxigénvegyértékek az arra alkalmas anyagokhoz kapcsolódnak és peroxidok keletkeznek. Legyen például a könnyen oxidálható és peroxidot létesítő anyag a *terpentinolaj*; a nehezen oxidálódó anyag pedig az *indigó*, amely különben közönséges oxigén hatására nem változik meg. A folyamat első szakaszában a *terpentinolaj* molekulánként peroxidot létesít az oxigénnel:



A második fázisban a keletkezett peroxid oxigénjének felét átadja az *indigónak*:

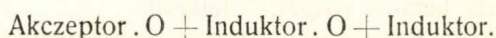
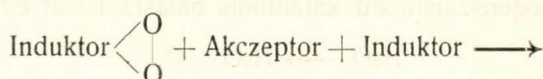
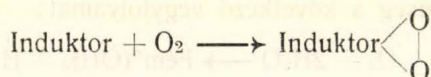


Az is megtörténhetik, hogy a létesült peroxid mindkét oxigénatomját oxidációra fordíthatja és így ismét visszaalakul. Ilyenkor a könnyen oxidálható anyag (autoxidátor) a folyamat végső szakaszában éppen olyan alakban van jelen, mint eleinte; eszerint úgy működik, mint a katalizátor.

Van olyan eset is, amikor a peroxid oxid létesítése közben magával az autoxidátorral reagál, mikor tehát az autoxidátor egy része mindig elfogy. Az ilyen reakciókat a katalizistól való megkülönböztetés céljából

indukált reakcióknak nevezzük. A könnyen oxidálható anyagot ez esetben *induktor-nak*, az oxidálandó anyagot *akceptor-nak* nevezzük.

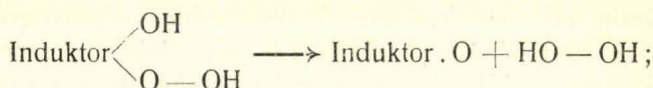
Az indukált reakció különböző szakaszait a következő egyenletek mutatják:



Fontos eset az is, amikor a létesült peroxidok víz jelenlétében hatnak. Ilyenkor a peroxid a vízzel először addicziós vegyületet létesít:



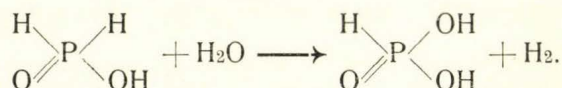
Az addicziós vegyület azután elbomlik:



az ilyenkor keletkezett hidrogénszuperoxid oxidáló hatásokra alkalmas.

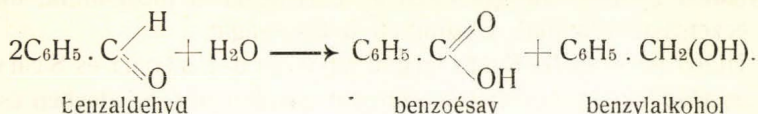
Előbb már említettük, hogy oxidáló hatások nemcsak a levegő oxigénjének rovására mennek végbe, hanem a kötött oxigén rovására is. Az élő szervezetben lejátszódó folyamatok között főképpen a víz az az anyag, amely az oxidációkhoz szükséges kötött oxigént szolgáltatja. Ez az eset azonban csakis akkor következhetik be, ha egyidejűleg kétféle anyag van jelen. Az egyik a víznek hydroxiljával mohón egyesül, a másik pedig a víz hidrogénjének rovására mohón redukálódik.

A folyamat megértését megkönnyíti az a példa, mikor fém-palládium jelenlétében a hypophosphorossav és sói a vizet megbontják. Sem a hypophosphitok önmagukban, sem pedig a palládium nem alkalmas a víz megbontására, hanem, ha a hypophosphit oldatába palládium-fémet adagolunk, a hypophosphit phosphattá oxidálódik, a hidrogént pedig a palládium egy időre megköti:



Hasonló reakciókra a szerves chemia is szolgáltat példákat, amely reakciók a vízben jelenlévő oxigén, illetőleg hidrogén rovására

folynak le. Ilyen a C a n n i z z a r o-féle reakció, amely szerint az aldehidek részben savvá oxidálódnak, ugyanakkor pedig részben alkohollá redukálódnak, pl.:



Ezek a megfontolások az oxidázok kiváltotta reakciókat kielégítően magyarázzák ugyan, azonban az oxidázoknak maguknak a szerepe meglehetősen homályos. Különösen azért kételkednek sokan az oxidázok enzimermészetében, mert anorganikus anyagok (mint pl. a kolloidális ferrocyanvas) az oxidázok reakcióit képesek kiváltani. Bertrand is a legtöbb oxidációs folyamatot pusztán mangánsók jelenlétének tudja be. A mi szempontunkból egyelőre nem törődünk azzal, hogy miféle érvek szólnak az oxidázok enzimermészete mellett és ellene, hanem megelégszünk azzal, hogy az oxidázok jellegzetes tulajdonságait és fölismerésük módjait tárgyaljuk.

A lassú égés és az oxidázok czímen D o b y G é z a a „Természet-tudományi Közlöny“ 1911. évi pótfüzetében tanulmányt irt. Ebben az érdeklődők megtalálják kiegészítésképpen mindazokat a részleteket, különösen az oxidázok élettani jelentőségét illetőleg, amelyeket éppen az említett tanulmány megjelenése miatt ehelyütt mellőztem.

Az alkohol-oxidáz.¹

Az aethylalkoholnak eczetsavvá való oxidációját chemiai szempontból legkönnyebben lehetett megmagyarázni és enzim nélkül is megvalósítani. Nem csoda tehát, hogy a mikroorganizmusok szerepét a szesznek eczetté való átalakulásakor csak később figyelték meg.

P e r s o o n ugyan már 1822-ben fölfedezte a Mycoderma aceti alkotta fátvöltakarót, amely az eczetsavas erjedés alkalmával az erjedő folyadék felszínén megjelenik; észlelése azonban nem volt kellő hatással, mert helyes értelmezését késleltette D a v y-nek az a megfigyelése (1821), hogy a platinatapló alkoholgőzben eczetsavvá alakul át, miközben a hőfejlődés a taplót izzásba hozza. D ö b e r e i n e r (1823) fölismerte, hogy az eczetsavas erjedéshez szükséges föltételek: az aethylalkohol, az oxigén és valamely olyan anyag, amely az oxigént megsűríti és az alkoholra átviszi, mert hiszen a víz és alkohol keveréke levegő hatására közvetlenül nem ad eczetsavat. Hogy azonban melyik az az anyag, amely az oxigén közvetítését végzi, arra nézve a vélemények egyelőre tévesek voltak.

¹ Buchner Eduard und Gaunt Rufus: Liebig's Annalen, 349, 140 (1906) 1.

Berzelius (1839) a létesült eczetsavat magát tekintette hatásosnak és azt vélte, hogy ha az eczetsav képződése az erjedő folyadékban egyszer megindult, akkor különös módon ez is elősegíti az eczetsav keletkezését. Az erjedést gyorsító anyagképpen az eczetágyat is megemlítik, de ez is csak eczetsavtartalmának köszönheti hatásosságát.

Hiába ismerték fel Kützing, Cagniard-Latour és Schwann az élesztősejtek természetét és szerepét az alkoholos erjedésben és hiába ismerték föl az eczetágnak is élő növénytermészetét és az alkoholnak eczetsavvá való átalakításával való összefüggését, Davy előbb említett észlelete megakadályozta a jelenségek helyes értelmezését és még Liebig-et is félrevezették, aki a bevezetésben említett *bomláselmélet* analógiájára az eczetsavas erjedést is hasonlóképpen igyekezett magyarázni. Szerinte kell, hogy az alkoholban valamely könnyen átalakítható anyag legyen jelen, amely az oxigénnel érintkezve, oxidálódik és ez a folyamat áterjed azután az alkoholra is és így végül eczetsav jön létre.

Ismét Pasteur volt az, aki az eczetsavas erjedés valódi okát földerítette. Bebizonyította, hogy az olyan alkoholtartalmú folyadék, amely proteinek és egyéb vonadékanyagot tartalmaz, az eczetsavképződésnek nyomát sem mutatja, mielőtt a Mycoderma aceti fejlődése meg nem indult. Ez a növény, írja Pasteur, „azzal a különös sajátsággal bír, hogy a levegő oxigénjét megsűríti, akárcsak a platinatapló, azután pedig az elnyelt oxigént a folyadékban oldott anyagok elégetésére fordítja.” Hangsúlyozza azonban Pasteur, hogy a növénynek ezt a viselkedését nem tudja be fiziológiai hatásnak, hanem egyszerűen „szerkezeti” (fizikai, adszorpcziós) okokkal hozza összefüggésbe (itt ő is megint a platinataplóra gondol). Eszerint Pasteur sem volt képes arra, hogy ugyanazt az álláspontot, amelyet az alkoholos erjedés tekintetében elfoglalt, az eczetsavas erjedésre is kellő súlylyal hangoztassa.

Később Mayer Ad. és von Knieriem (1873) a mikroorganizmusok szerepét az eczetsavas erjedésben jobban megvilágították azzal, hogy a platinatapló és a Mycoderma működését alaposan összehasonlították. Fölvetették ugyanis a következő kérdést: „Alkalmas-e a finoman elosztott platina arra, hogy az aethylalkoholt ugyanolyan körülmények között és hasonló eredménynyel alakítsa át eczetsavvá, mint a Mycoderma aceti?” Pasteur nézete szerint a kérdésre igenlő választ kellett volna kapnunk, a kísérletek azonban nagy eltéréseket mutattak, amennyiben, mint ismeretes, a platinatapló hatása az alkohol mennyiségével és a hőmérséklet növekedésével élénkül, ellenben az eczetágy működése a hőmérséklet emelkedésekor azon a ponton, amely egyúttal a mikroorganizmusok életműködését is megszünteti, szintén véget ér. Tisztán adszorpcziós jelenség pedig már azért sem lehet az eczetsavas erjedés, mert a Mycodermához hasonló fizikai szerkezetű anyagok, mint például

a szűrőpapiros, képtelenek a levegő oxigénjét az alkoholra átvinni. Különösen bizonyító erejű volt az a kísérlet, amikor az eczetsen erjedő folyadékot Mycoderma-fátyolostól addig hevítették, amíg a Mycoderma megszűnt élni. Annak daczára, hogy a növény fizikai állapota és szerkezete ugyanaz maradt, mégsem volt képes az alkohol további oxidációját előidézni. Eszerint tehát az eczetsavas erjedés a hasadó gombák életével a legszorosabb összefüggésben van. Ezután két irányban kezdték folytatni a kísérleteket: Az egyik irány követői az eczetsavas erjedést előidéző mikroorganizmusokat tanulmányozták alaposan, amely kutatásaikkal különösen Hansen, Brown, Hoyer és Henneberg örökítették meg a nevüket. Másrészt többen annak vizsgálatával foglalkoztak, vajjon alkalmas-e más anyag is arra, hogy a levegő jelenlétében mikroorganizmusok hatására oxidálódjék? Ezen a téren Brown, Bertrand, Seifert és Emmerling váltak ki sikeres kutatásaikkal.

Miután Buchner-nek sikerült az alkoholos erjedés enzimjét fölfedezni, természetesen az eczetsavas erjedésre is figyelemmel volt és ennek a folyamatnak a hatásos enzimjét is meg akarta találni. Amint kísérleteinek alábbi ismertetéséből látható, Gaunt segítségével ez sikerült is neki.

A kísérletek végzéséhez elsősorban is nagyobb mennyiségű eczetsavas erjedést előidéző mikroorganizmusra volt szükség, tehát első dolog volt az eczetsavas baktériumokat nagyban kitenyészteni és összegyűjteni. Buchner és Gaunt, hogy hamarabb érjenek el eredményt, eltekintettek a valódi tiszta kulturáktól és a tenyésztőoldatokat olyan baktériumokkal oltották be, amelyek barna sörben 25—30 C°-os hőmérsékleten nyitott Erlenmeyer-lombikban három nap alatt önként elszaporodtak. Tenyésztőoldatként komlótol mentes sörlevet használtak, amelyet közvetlenül, forrón hoztak egy közeli sörgyárból, amely tehát gyakorlati szempontból sterilis volt. Ezt a sörlevet, mivel 15—20% cukrot tartalmazott, kútvízzel kétszeres térfogatra hígították, s a folyadék lehűlése után 4% alkohollal és 1% eczetsavval elegyítették és 28 C°-on eczetsavbaktériumokkal beoltva, a levegő hatásának kitéve, lapos edényekben hagyták állani. 5—6 nap múlva a folyadékot összefüggő hártya borította és a hártyában főképpen *Bacterium aceti* (Hansen) volt jelen. A tenyésztés idejének leteltével a folyadékot lopóval leszívták, a baktériumkulturát kártyalappal összegyűjtötték és centrifugálták, majd pedig a baktériumüledéket vízzetértékvízzel még két ízben fölázatták és ismét centrifugálták. Az ekképpen termelt baktériumtömeg még 90% nedvességet tartalmazott, miért is további vízmentesítése céljából 15—20 óráig agyagtányéron szárították, mire a víztartalma 55%-ra csökkent. Egy liter tenyésztőoldat átlagban 1 g. agyagtányéron szárított terméket adott, ebből pedig 0.5 g.-nyi eczetsavbaktériumkészítményt lehetett nyerni.

Hogy a baktériumokból állandó készítményt lehessen előállítani, avégből a következő eljárást alkalmazták, amely előzőleg már az acetonos élesztő előállításakor is jó eredményt adott. A körülbelül 55% vizet tartalmazó baktériumtömeget dörzsölő csészében 15 percig 20 s. r. tiszta acetonnal keverték el, anélkül, hogy a pisztillumra nyomást gyakoroltak volna. Ha 90% vizet tartalmazó baktériumtömegből indultak ki, akkor 30 s. r. acetont használtak. Miután az acetont legnagyobb részét dekantálással eltávolították, a baktériumtömeget keményített szűrőn keresztülszívatták és aetherrel két-három ízben kimosták, majd pedig kénsav fölött vákuumban megszáritották. Ekképpen világosbarna port kaptak, amelynek nedvességtartalma 0.8% volt.

Az így előállított készítményekkel az erjesztő kísérleteket olyképpen végezték, hogy a tömeget tiszta homokkal és kovafölddel keverték el és 4% alkohol jelenlétében 28 C°-on hagyták állni, úgynevezett Chudia kow-féle erjesztő edényben, oly módon, hogy közben állandóan levegőt hajtottak rajta keresztül, amelynek térfogata egészben véve 45—50 liter volt. A Chudia kow-féle edény nagyon alkalmas erre a célra. Kúpalakú edény, amelynek alján nyílása van, ezen át hatol be a levegő; csúcsára kivezető cső van forrasztva. Mivel az alkoholoroxidáz savval szemben érzékeny, minden kísérlet alkalmával kevés kalcium-karbonátot és a kísérlet folyamán való sterilitás fönntartására 4% toluolt is adagoltak a próbákhoz. Minden kísérlettel egyidejűleg ellenőrző kísérletet is állítottak be, amelynél az edényt tartalmával együtt $1\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ óra hosszat tartották forró vízfürdőben. Különös gondot fordítottak továbbá a képződött illósav meghatározására. Tekintettel arra, hogy csekély savmennyiségek méréséről volt szó, a vízgőzzel áthajtott szénsav is zavart okozott volna, éppen ezért a kísérlet végén a folyadékot kénsavval megsavanyítva, vízgőzzel desztillálták le, majd pedig a párlatot báriumkarbonáttal besűrítették, a csapadékról leszűrték és 50 cm³ 25%-os phosphorsav hozzáadása után vízgőzzel újból desztillálták, majd pedig a párlatot megtrálták. Hogy valóban eczetsav képződött, azt az ezüstsó ezüstitartalma mutatta meg.

A kísérleti eredményeket a 301. oldalon lévő összeállítás mutatja.

A keletkezett eczetsavmennyiségek ugyan nem voltak nagyok és legjobb esetben a használt baktériumkészítmény 4%-ára rugtak, azonban keletkezésüket minden bizonynnyal az eczetsavas erjedést előidéző enzim munkájának tudhatjuk be.

Ugyanezzel a készítménnyel a propylalkoholnak propionsavvá való átalakulását is be lehetett bizonyítani.

Hogy a kísérleteknek kellő súlyuk legyen, fontos volt azt megállapítani, hogy a baktériumkészítményben az acetonnal való kezelés dacára nem maradtak-e meg élő sejtek? A kitenyészto kísérletek azt

A kísérlet száma	A baktérium-tenyésztés módja	A baktériumkészítmény			Az alkohol mennyisége % ₀ -ban	Az eczetsav grammokban			
		kezelés-módja acetonba áztatás előtt	használati módja			talált mennyiség		keletkezett mennyiség	100g. baktériumkészítményre számítva
			eldörzsölve vagy nem	mennyisége grammokban		kísérlet	ellenőrző kísérlet		
1	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	agyagtányé- ron szárítva	eldörzsölve	17·4	4	0·35	0·01	0·34	1·95
2	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	agyagtányé- ron szárítva	eldörzsölve	7·0	4	0·19	0·06	0·13	1·86
3	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	csak centri- fugálva	eldörzsölve	17·4	4	0·09	0·01	0·08	0·46
4	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	csak centri- fugálva	eldörzsölve	20·0	4	0·13	0·01	0·12	0·60
5	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	csak centri- fugálva	eldörzsölve	15·0	4	0·06	0·03	0·03	0·2
6	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	csak centri- fugálva	nem eldörzsölve	20	4	0·05	0·05	0·0	0·0
7	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	csak centri- fugálva	eldörzsölve	20	4	0·03	0·02	0·01	0·05
8	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	agyagtányé- ron szárítva	nem eldörzsölve	20	4	0·40	0·05	0·35	1·75
9	sörlé 28 C ⁰ 5 nap	agyagtányé- ron szárítva	nem eldörzsölve	20	4	0·22	0·04	0·18	0·90
10	sörlé 16—22 C ⁰ 10 nap	agyagtányé- ron szárítva	nem eldörzsölve	10	2	0·45	0·05	0·40	4·00
11	sörlé 10—16 C ⁰ 14 nap	agyagtányé- ron szárítva	nem eldörzsölve	20	2	0·42	0·05	0·37	1·85
12	sörlé 16—20 C ⁰ 10 nap	agyagtányé- ron szárítva	nem eldörzsölve	10	2	0·38	0·15	0·23	2·3
13	sörlé 28 C ⁰ 0·01 % FeCl ₃ 0·01 % MnSO ₄	agyagtányé- ron szárítva	nem eldörzsölve	20	2	0·16	0·11	0·05	0·25

mutatták, hogy a frissen centrifugált és azonnal acetonnal kezelt készítmény valóban sterilis volt, ellenben az agyagtányéron előbb megszikkadt baktériumtömegből készült preparátumból az ecetsavas baktériumokat ki lehetett tenyészteni. A sok közül tehát néhány még életben maradt. Eszerint fölmerült a kérdés, hogy az előbbi kísérletek során keletkezett ecetsav talán annak a néhány életbenmaradt ecetsavas baktériumnak a munkája volt. Ez ellen szól azonban az a körülmény, hogy a használt antiszeptikum, a toluol jelenlétében az élő baktériumok ecetsavtermelő hatása minimális.

Buchnerék megkísérelték az ecetsavas baktériumtömegből sajtolással is előállítani alkoholoroxidtartalmú folyadékot. Kaptak is ecetsavas baktériumlevet, ez azonban hatástalan volt. Ennek két oka lehet: az enzim érzékenységénél fogva a sajtoláskor vagy tönkremegy, vagy pedig az enzim nem oldható anyag.

Az alkoholoroxidáz előfordulása és tulajdonságai.

Legjellemzőbb az alkoholoroxidáz előfordulása a hasadógombákban. Ezidőszerint egész sorozat baktériumot ismerünk, amelyek az ecetsavas erjedés létesítésére képesek; ilyenek pl. a *Bacterium aceti*, *B. Pasteurianum*, *B. Kuetzingianum*, *B. oxydans*, *B. acetosum*, *B. acetigenum*, *Thermobacterium aceti* stb. A legtöbb élesztő-okozta alkoholos erjedés alkalmával csekély mennyiségű ecetsav is létesül. Valamennyi ecetsavas baktérium aërofil és mindenféle tápláló folyadékokban elszaporodik, nitrogénszükségletét pedig, akárcsak az élesztő, ammoniumsókból is fedezheti. 60 C°-ra melegítve, megszűnik élni; a benne működő enzim hatása már valamivel hamarabb megszűnik. 12—15 C°-on alul működésének élénksége csökkenik. A protoplazmamérgekkel szemben éppen úgy viselkedik, mint az élesztőgombák, mindössze kénessavval szemben érzékenyebb, miért is a borokat kénezéssel eredményesen óvhatjuk meg az ecetsavas baktériumok munkájától. Közvetlen napfény és elektromos áram megakasztja és 10%-on felül jelenlévő alkohol megöli az ecetsavas baktériumokat. Alkálival szemben rendkívül érzékenyek, ecetsavval szemben azonban módfelett ellentállók; 2% ecetsav jelenlétében a leglúktetőbb életjelenségek észlelhetők rajtuk és sokkal nagyobb koncentrációkat is baj nélkül elviselnek. Az ecetsavas baktériumok a szőlőcukrot, némelyek az arabinózt, mannitot stb. is el tudják erjeszteni. Hogy a propylalkoholnak propionsavvá való oxidációját is előidézhetik, azt már fönt láttuk.

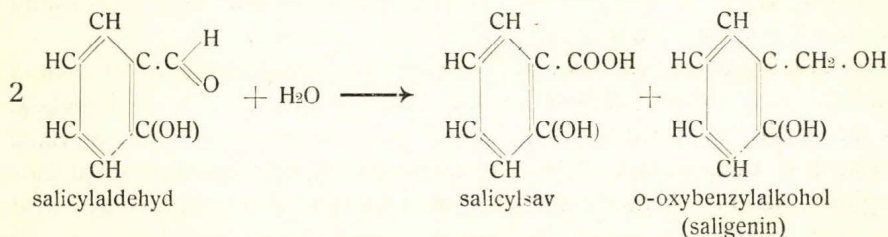
Battelli és Stern¹ az állatvilágban is találtak alkoholoroxidázt. Különösen a különféle állatok májában és a ló veséjében van jelen az

¹ Battelli F. és Stern L.: Biochemische Zeitschrift 28, 145 (1910) 1.

enzim, amelyet a szövetekből ki lehet vonni és poralakú készítmény alakjában eltartani. Működését legjobban 55 C°-on végzi nagyon gyengén lúgos közegben, míg a savanyú, vagy erősebben lúgos közeg az enzim hatását megakasztja.

Az aldehydáz (salicyláz, α -oxidáz).

Az állati szövetekben már régebben találtak olyan enzimet, amely a salicylaldehydnek oxidációját salicylsavvá gyorsította. Abelous (1903) azonban észrevette, hogy az enzimes oxidációhoz szükséges oxigén nem a levegőből származik, hanem a szövetekben jelenlévő valamely más anyagból. Később azután Battelli és Stern¹ tisztázták a kérdést és kimutatták, hogy nem egyszerű oxidációról van szó, hanem olyan vegyfyamatról, amelyet a szerves chemiában a Cannizzaro-féle reakciónak nevezünk, s amely abban áll, hogy az aldehyd savvá oxidálódik, egy része pedig víz jelenlétében egyidejűleg alkohollá redukálódik. A vegyfyamat eszerint a következőképpen megy végbe:



Az is kiderült, hogy az enzim nemcsak a salicylaldehyd átalakítására képes, hanem más aldehydekek is, pl. az acetaldehyd, propionaldehyd, n-butylaldehyd, isobutylaldehyd, isovaleraldehyd, n-valeraldehyd, oenanthol, benzaldehyd, stb. hasonló reakció szerint a megfelelő savat, illetőleg alkoholt adják.

Az aldehydáz előfordulása. Előfordulása a növényekben kétes, az állatvilágban ellenben több esetben megtalálták. Aránylag nagy mennyiségben van jelen az emlősök májában, lépében, tüdejében és mellékveséjében. Kimutatható a tehéntejben, ellenben hiányzik a nők tejében. A legtöbb aldehydáz az acetaldehydre erélyesebben hat, mint a salicylaldehydre.

Az aldehydáz előállítása.¹ Friss marhamájat összevagdolás után kvarczhomokkal eldörzsölünk és a tömeget desztillált vízzel toluol jelenlétében néhány óráig pihentetjük, majd kendőn átszűrjük. A szűre-

¹ Battelli és Stern: Comptes rendus de la société de biologie 68, 742 (1910). 1.

¹ Jacoby M.: Zeitschrift f. physiologische Chemie 30, 135—148 (1900) 1.

déket most annyi tömény ammoniumsulfátoldattal elegyítjük, hogy a folyadék telítése 25%-nyi legyen. Az ammóniumsulfát adagolásakor most is és később is annyi hígított szódaoldatot csepegtetünk a tömegbe, amíg a kémhatás gyöngén lúgossá lesz és a képződő ammonia szagát határozottan érzékelhetjük, mert savanyú kémhatás az enzimet igen gyorsan tönkreteszi. 24 óra múlva a kivált csapadékról leszűrt folyadékot 33·3% telítettségig ammoniumsulfátoldattal keverjük s a 24 óra múlva leülepedett csapadékot ismét eltávolítjuk. Most ammoniumsulfáttal 60%-ig telítjük a folyadékot és az ilyen körülmények között kivált csapadék már az enzim főtömegét is magával ragadja. Ezt a csapadékot tehát elkülönítjük, majd pedig vízzel lúgozzuk ki, miközben csak egy része oldódik föl. A szűrletből 30% alkohol hozzáadására kivált csapadékot vízzel ismét kivonjuk és a szódával gyöngén savanyú kémhatásúvá tett oldatból uranylacetáttal csapadékot választunk le, amelyet vízzel kivonunk. Az ily módon termelt átlátszó oldat az aldehydáz sajátosságait élesen mutatja.

*Az aldehydáz kimutatása és meghatározása.*¹ A kimutatás azon alapszik, hogy a salicylsav ferrichlorid hozzáadására sötét ibolyaszínű reakciót ad, ellenben a salicylaldehyd nem változik.

A vizsgálandó kivonathoz 0·5—1·0 cm³ salicylaldehydet és toluolt öntünk és azután 24—48 óráig szobahőmérsékleten pihentetjük. A proteinek eltávolítása végett most a reakciókeveréket forró vízbe öntjük; a denaturálást csekély mennyiségű híg sav hozzáadásával elősegítjük, majd az oldatot rövid főzés után szűrjük. A szüredéket szódával gyöngén lúgossá teszszük, vízfürdön vastag sziruppá sűrítjük be, a maradékot 96%-os alkohollal kifőzzük; a szüredéket vízfürdön lehetőleg szárazra párologtatjuk, a maradékot vízben oldjuk, kénsavval meg-savanyítjuk és a fölszabadult salicylsavat aetherrel kioldjuk. Az aetheres oldatokat egyesítjük, az aethert róluk elűzzük és a maradékot meg-vizsgáljuk, vajjon salicylsavval van-e dolgunk?

Mennyiségi meghatározás esetén megmérhetjük az előbb említett eljárás során kapott salicylsav mennyiségét is, vagy pedig kolorimétriás úton határozhatjuk meg a létesült salicylsavat a vaschloridos színreakció alapján. Összehasonlító oldatképpen olyan folyadékot használunk, amelynek 100 cm³-ében 0·5 g. salicylsavat oldottunk. Ebből az oldatból 2 cm³-t 100 cm³-re hígítunk és néhány csöpp ferrichloriddal elegyítünk. Ez az alapoldat. Az enzim reakciókeverékből termelt salicylsavat annyira hígítjuk, míg a koloriméterben ugyanolyan színintenzitású oldatot kapunk s ekkor azt is megtudjuk, hogy mennyi salicylsavat tartalmaz a kérdéses oldat.

¹ Salkowski E.: Virchows Archiv 147, 1 (1898) 1.

Az aldehydáz tulajdonságai.

Pergamenten keresztül nem dializál, Chamberland-féle agyag-szűrőn ellenben áthatol. Hatását a savak és lúgok igen gyorsan megakasztják; éppen úgy hatnak rá a kéksav és a hydroxylamin is. Nitrátok, nitritek, alkaliszulfidok és kénhydrogén szintén lassítják a folyamatot. Légritkított térben hatásosabb, mint levegő jelenlétében vagy oxigénkörnyezetben. Az utóbbi tulajdonsága arra mutatna, hogy az oxidáló hatást itt is az enzimmal egyszerre föllépő peroxidok végzik a Bach-Chodat-féle elmélet értelmében. Működésének optimális hőmérséklete 60°C , halálos hőmérséklete 100°C körül van.

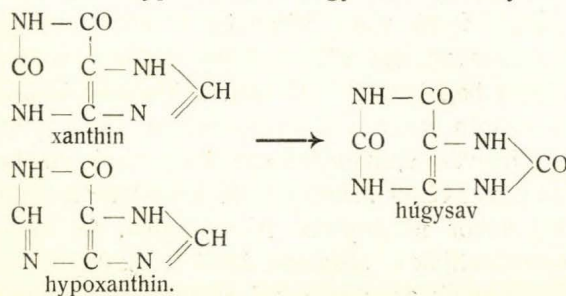
Purinoxidázok.

Az élő szervezetben nagy szerepet játszó nukleinek átalakulásait számos enzim végzi.

A már ismertett nukleázok hatására képződnek bomlástermék-képpen a *purin*-anyagok. Utóbbiaknak oxidációs úton való átalakításában számos enzim szerepel. Ezek közül kettő van, amely annyira ismeretes, hogy tárgyalásuk lehetséges: a *xanthinoxidáz* és az *urikáz*.

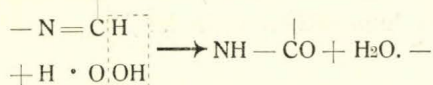
A xanthinoxidáz.

A xanthint és a hypoxanthint húgysavvá oxidálja:



Mindkét esetben ugyanaz a reakció játszódik le, amennyiben az $-\text{N}=\text{CH}$ csoportból az $-\text{NH}-\text{CO}$ csoport képződik.

Ezt a folyamatot Bach szerint legjobban peroxidok közbenjárásával magyarázhatjuk meg. Ha a hydrogénhyperoxidot Bredig szerint $\text{H}\cdot$ és OOH' ionokra disszociálva képzeljük, akkor könnyen elképzelhetjük a következő folyamatot:



Ugyanez a reakció természetesen akkor is végbemehet, ha hidrogén-peroxid helyett egyéb peroxidok, például oxigenázok vannak jelen.

A xanthinoxidáz előfordul némely baktériumban; a marha májában, lépében, izmaiban, belében, tüdejében; a disznó és az ember májában stb.

Hatásos készítményeket a marha májának chloroformos vízzel, jéggel való hűtés közben történő kivonása útján nyerhetünk.

Kimutatás. 0.5 g. hypoxanthint, vagy xanthint lehetőleg kevés normál nátronlúgban oldunk; az oldathoz körülbelül 500 cm³ vizsgálandó folyadékot keverünk, azután chloroformot és toluolt adva még hozzá, költőszekrényben több napig állani hagyjuk, miközben a reakciókeveréken állandóan levegőt hajtunk keresztül. Mivel a levegő a chloroformot, meg a toluolt magával ragadja, legcélszerűbb a behajtandó levegőt chloroformmal és toluollal telt mosóüvegen keresztül bugyborékoltatni. A hatás befejezése után a reakciókeveréket gyorsan felfőzzük, majd ecetsavval gyengén megsavanyítjuk és a keletkezett csapadékról leszűrjük. A csapadékot célszerű ecetsavval megsavanyított vízzel többször kifőzni és a szűrleteket egyesíteni. A purinbázisok leválasztása céljából a folyadékot most ammóniával lúgossá tesszük és ammóniás ezüstnitrátoldattal kicsapjuk, néhány óra múlva a csapadékot leszűrjük és híg ammóniával alaposan kimossuk. A csapadékot azután olyan káliumszulfid-oldattal bontjuk el, a melyhez néhány cm³ tömény alumíniumacetátoldatot öntöttünk; majd a keveréket ecetsavval gyengén megsavanyítjuk és a csapadékot leszűrjük. Ily módon átlátszó szűrletet kaphatunk, amelyhez még a csapadéknak forró vizes kivonatát is hozzáöntjük, majd pedig sósavval való megsavanyítás után néhány cm³-re bepárologtatjuk és néhány óráig állani hagyjuk. Ez idő alatt a húgysav leválik; ezt azután előre megmért szűrőn vagy Gooch-tégelyen összegyűjtjük, sósavas vízzel, majd a zsírsavak eltávolítása céljából forró alkohollal és széndiszulfiddal kimossuk, végül megszáritjuk. Ha a kapott húgysav mennyisége elég nagy, akkor néhányszor nátronlúgban feloldjuk, az oldatot csontszénnel színtelenítjük és sósavval újból leválasztjuk, majd 100 C⁰-on megszáritjuk és a termék azonosságáról elemzéssel bizonyosodunk meg; ha pedig kevés volna, akkor a murexidpróba és a húgysav kristályalakja elegendő a fölismerésére. A murexidpróbát úgy végezzük, hogy az anyagot híg salétromsavval vízfürdőn szárazra párologtatjuk. Ekkor vöröses maradékot kapunk, amely híg ammóniával vagy ammóniumkarbonáttal biborvörös színű lesz; s ha a próbához még káliumhydroxidot, vagy káliumkarbonátot csöppentünk, ibolyaszínű reakció mutatkozik. Ami a kristályalakot illeti, fénylő pikkelyekből álló kristálytömeget alkot; lassú lehűléskor kis lemezekben válik ki.

aetherrel mossuk és levegőn megszárítjuk. Ezzel az eljárással igen jó eredményeket kapunk, ha a ló máját, vagy a marha veséjét dolgozzuk fel. Az előállított készítmény 2—3 g.-ja 1 óra alatt 0.20 g. húgysavat bont el a levegő jelenlétében. Ha egy kg. friss anyagból indultunk ki, ebből 60 g. enzimkészítményt állíthatunk elő.

Az urikáz kimutatása és meghatározása.

Az urikáz kimutatása céljából a vizsgálandó friss állati szövetet, vagy pedig az urikázkészítményt húgysav hozzáadása után oxigén jelenlétében thermosztátban rázzuk. A kísérlet végén a lombik levegőjét meg-elemezzük. Ha a jelen volt oxigénmennyiség csökkent és egyúttal a széndioxidé növekedett és nagyobb, mint az ellenőrző kísérlet esetében, amikor húgysav nem volt jelen: az urikáz jelenléte be van bizonyítva.

A mennyiségi meghatározás kivitele során a főszlyt a szövetek fejlesztette széndioxid meghatározására kell fordítani, mert a szövetek széndioxid-fejlesztésének fokozódása ugyanakkora húgysavmennyiség hozzáadása után úgyszólván állandó érték.

A húgysav urikázos átalakulására többféle tényező van befolyással. Ezeket a tényezőket a mennyileges meghatározásoknál mindig úgy kell megválasztanunk, hogy állandók maradjanak, mert különben nem kap-hatunk egymással összehasonlítható eredményeket. Elsősorban a rázás tartama, a thermosztát hőmérsékletének állandósága, a közeg lúgossági foka, a vizsgálandó folyadék mennyisége és a kísérlethez használt húgy-sav mennyisége kell, hogy mindig egyforma legyen. A rázás tartamát legczélszerűbb, ha 1 órára szabjuk; a thermosztát hőmérsékletét pedig 38—40 C°-ra állítjuk be. A húgysav mennyiségét úgy kell választanunk, hogy egy része mindig változatlanul maradjon vissza. Viszont igen nagy mennyiséget sem szabad vennünk, mert ez ismét befolyásolja a húgysav enzimés átalakulását. Battelli és Stern egy-egy kísérlethez mindig 0.2 g. húgysavat használtak és a körülményeket úgy választották meg, hogy a kísérlet végén a húgysavból körülbelül 0.1 g. változatlan marad, vagyis sohasem fejlődött több, mint körülbelül 13 cm³ széndioxid.

A húgysavat föltétlenül szabad sav alakjában kell a reakciókeverékhez adni, mert minden húgysavas só karbonátot is tartalmaz. A kísérlet kezdetekor a húgysavhoz annyi nátriumhydroxidot adunk, hogy a savanyú só létesülhessen, vagyis 0.2 g. húgysavra 5 cm³ 10%-os nátronlúg kell. A folyadék kivánt lúgosságát ammónia hozzáadásával érjük el. A használt ammónia mennyisége a vizsgálandó állati szövet mennyiségéhez képest változik. Battelli és Stern empirikusan megállapították, hogy 30 g. friss szövetrésznek, vagy pedig 10 g. alkoholkészítménynek legalkalma-sabb 0.70:1000 ammóniakoncentráció; 15 g. friss enzimtartalmú anyagnak, illetőleg 5 g. alkoholkészítménynek 0.50:1000 és 10 g.

friss anyagnak, vagy 3 g. alkoholkészítménynek a 0.40:1000 ammónia-konzentráció a legmegfelelőbb.

A kísérletet magát a következőképpen végezzük: 400 cm³-es lombikot a termosztát vizébe nyakig bemélyesztünk, azután gyorsan beletesszük a megfelelő ammóniamennyiséget, a 0.20 g. húgysavat és az 5 cm³ 1%-os nátronlúgot, végül annyi vizet, hogy az összes folyadék 100 cm³ legyen. A lombikot bedugaszoljuk és néhány perczig rázzuk, hogy a folyadék a termosztát hőmérsékletét fölvegye és a húgysav fölöledjék. Ezután a vizsgálandó állati szövetrészt vagy enzinkészítményt teszszük a lombikba, ezt ledugaszoljuk és géppel benn a termosztátban erősen rázzuk. Ellenkező kísérletet is állítunk be, húgysav és a megfelelő mennyiségű nátronlúg hozzáadása nélkül.

Egy órai rázás után a dugónak csappal ellátott nyílásán keresztül mindegyik lombikba 3 cm³ tömény phosphorsavat öntünk, anélkül, hogy a lombik dugóját kivennők. A phosphorsav az urikáz hatását azonnal megszünteti, egyúttal az ammóniától lekötött széndioxidot is fölszabadítja. A széndioxid teljes fölszabadítása végett még 5 perczig rázatjuk a próbákat, majd pedig a lombikban levő gázok elemzésére térünk át. Az elemzést, vagyis a széndioxid és az oxigén mennyiségét a szokásos gázelemző eljárásokkal állapítjuk meg. Még csak a folyadéokban oldott gázok térfogatát kell meghatároznunk. A folyadéokban oldott oxigént teljesen figyelmen kívül hagyhatjuk, míg az oldott széndioxidot a higanyos szivattyú segítségével vonjuk ki és veszszük számításba.

Az urikáz tulajdonságai.

Az urikáz olyan oldatokból, amelyek nukleoproteideket tartalmaznak, eczetsavval való megsavanyításkor azokkal együtt kicsapódik. Savakkal és alkáliakkal szemben igen érzékeny. Ammóniumszulfát, konyhasó, káliumchlorid, káliumaczetát és karbamid károsan hatnak rá. Aethylhydroperoxid jelenlétében hatása megszűnik, ami arra mutat, hogy az urikáz a peroxidok oxigénjét nem képes értékesíteni. A haemoglobin aktiválta oxigént ellenben föl tudja venni. Hatásának optimális hőmérséklete 50—55 C°. A tripszin és papain megakasztják a működését.

Fenolázok.

A fenolázok olyan oxidáló enzimek, amelyek levegő jelenlétében az aromás vegyületeknek egész sorozatát képesek oxidálni. A salicylaldehydekekre és a tyrosinra hatástalanok. A Bach-Choda-féle elmélet értelmében a fenolázokban az

oxigenáz + peroxidáz

rendszeret találjuk meg. Az enzimhatás kifejtésére szükséges két anyag

közül a peroxidáz sokkal ellentállóbb, mint az oxigenáz, miért is számos esetben csak a peroxidázt tudjuk kimutatni olyképpen, hogy a természetes oxigenáz helyett peroxidot adunk a rendszerhez, amely azután a peroxidázt épp olyan hatású anyaggá változtatja, mintha természetes fenoláz volna. A valódi fenolázok jelenlétének kimutatásakor sokszor követték el azt a hibát, hogy peroxidtartalmú kémlőszert használtak, amilyen pl. a régi guajakgyanta-kivonat. Az ilyen kémlőszer a peroxidot magát is teljes fenolázrendszernek mutatja ki.

Különösen állati szövetek esetében volt gyakori a tévedés, mert a haemoglobin és származékai a peroxidtartalmú guajakgyantaoldattal a peroxidázhoz hasonló reakciót váltanak ki, annak dacára, hogy a vérben peroxidáz nincsen jelen.

A fenolázok előfordulása. Már régi kutatók (Schönbein) is megfigyelték a természetes chromogeneknek a növényvilágban való oxidációját. Ezen alapszik pl. a tealevelek barnulása, számos szárított növény megfeketedése, a kaucsuk színének sötétedése, stb. Az ilyen oxidáló hatásokat már régóta enzimhatás eredményének tulajdonították, de közelebbi vizsgálatukkal elsőkül Bourquetot és Bertrand foglalkoztak. Bertrand a Rhus vernicifera-ból, a tonkini lakkfából termelt oxidázt lakkáz-nak nevezte el. Ez az enzim a lakkfa kérgében levő sárga nedvet szép sötétfekete lakká változtatja. Ugyanez az enzim azonban egyéb oxidáló hatásra is alkalmas, miért is a fenolázok csoportjába tartozik. Bertrand maga számos virágos növényben, továbbá gombában és a gummi arabicumban is talált fenolázt. Úgyszólván lépten-nyomon találkozzunk hasonló oxidáló enzimekkel, amelyeknek legtöbbször nincsen különleges jellegük, vagyis nemcsak valamely különleges alapanyagra hatásosak, hanem számos aromás vegyület átalakítására is képesek. Ilyen oxidáz okozza pl. az alma frissen vágott szeleteinek barnulását. A burgonya és búza szintén gazdagok oxidázban.

Az állatvilág is termel fenolázokat. Aszidiákban, csigákban (Artemis exoleta és Ostrea edulis) és rákokban pl. találtak fenolázt. Sok egyéb adat is található az irodalomban, azonban nagyon sok köztük a megbízhatatlan, amennyiben a kimutatás nem történt azzal a gonddal és körültekintéssel, amelyet ez a kérdés megkövetelne.

Fenolázkészítmények előállítása.

A Rhus vernicifera vagy a Rhus succedanea tejnedvét 4—5-szörös térfogatú alkohollal kezeljük, a képződött csapadékot vásznon összegyűjtjük és addig mossuk alkohollal, amíg a mosófolyadék vízzel már nem zavarodik meg, vagyis a gyantát eltávolítottuk. A visszamaradt tömeget most hideg vízzel kilúgozzuk, s a szűrletet 10 térfogat alkohollal kicsapjuk, majd a csapadékot összegyűjtjük és vákuumban kénsav fölött meg-

szárítjuk. Ez az a készítmény, amelyet Bertrand lakkáz-nak¹ nevezett el.

Fenolázoldat előállítására igen alkalmas Bach szerint némely gomba, különösen pedig a *Russula foetens* és a *Lactarius vellereus*.

A *Russula foetens* gombát feldarabolva, kisajtoljuk; levét egyenesen alkoholban fogjuk föl. A bőséges csapadékot agyagtányéron, majd szűrőpapiroson lehetőleg gyorsan megszáritjuk. A nyers termék vízzel való kezelésekor lakkáz és tyrosináz oldódnak ki. A kettőnek elkülönítése céljából a tyrosináznak a meleggel szemben tanúsított gyöngye ellenállóképességét használjuk fel. E célból a vizes oldatot egy órán át 65 C°-ra melegítjük, miközben a tyrosináz elpusztul, míg a lakkáz csupán kissé meggyengül.

A fenolázok kimutatása és meghatározása.

A minőleges kimutatás céljából a kérdéses kivonatot α -naphtol és parafenylendiamin keverékével elegyítjük. Fenoláz jelenlétében nem-sókára indophenolkék létesül. A fenoláz a pyrogallol oldatából vörösbarna oldhatatlan purpurogallincsapadékot választ le; a guajakololdatot vörösbarnára festi. Ezenkívül számos phenollal színreakciót, illetőleg csapadékképződést létesít. (A kimutatás egyéb módjait lásd a peroxidázok kimutatásánál.)

Az említett színreakciók közül az indophenolreakció mennyiségi vizsgálatokra is alkalmas és ennek alapján Vernon² kolorimétriás eljárást dolgozott ki. Az eljárás kiviteléhez szükséges 1%-os α -naphtol-oldat 50%-os alkoholban, azután 0.75%-os sósavas parafenylendiaminnak vizes oldata és 1.7%-os nátriumkarbonátoldat. E három oldat mindegyikéből egy-egy cm³-t összeöntünk és vízzel 10 cm³-re feltöltve, a frissen készített szövetvagdaléknak 0.5 g.-jára ebből az oldatból 5 cm³-t öntünk. Egy órai 17 C°-on való állás után a létesült oldhatatlan indophenolkék a szövetvagdalékot bevonja. Az enzimhatást ekkor megszakítjuk oly módon, hogy a reakciókeverékhez 10 cm³ 97%-os alkoholt öntünk, majd félóráig pihentetjük. Ez idő alatt a létesült indophenolkék lassan feloldódik. A szüredékben most az indophenol mennyiségét ismert indophenoltartalmú oldat színárnyalatával való összehasonlítással megmérjük.

Az összehasonlító oldatot olyképpen készítjük, hogy az előbb használt reagens-oldatból, amelyből 5 cm³-t már elhasználtunk, 1.5 cm³-t veszünk és 200 térfogat 50%-os alkohollal hígítva, néhány napig állani hagyjuk mindaddig, amíg a színeződés (az indophenolképződés) maximuma bekövetkezik. Mivel az indophenol nem nagyon tartós és 14 nap

¹ Bertrand G.: Comptes rendus 118, 1215 l. (1904); Parkin J.: Report of the Brit. Assoc. for the advancement of science, 818 l. (1904).

² Vernon: Journal of Physiologie 42, 402 l. (1901); Biochemische Zeitschrift 47, 374 l. (1912).

mulva lassan elhalványodik, gondoskodnunk kell mindig arról, hogy az összehasonlító oldat ne legyen nagyon öreg. Az oldatok színárnyalatának összehasonlítását az alkohollal való leöntés után félórával kell végezni. A leírt mennyiségek pontos betartása szükséges, mert a módszer teljesen empirikus.

Ezenkívül alkalmazhatjuk a fenoláz mennyiségi meghatározására azt a módszert is, amely a pyrogallolnak purpurogallinná való átalakulásán alapszik és amelyet a peroxidáz mennyiségének meghatározásánál irtunk le; mindössze a hydrogenhyperoxid adagolását kell kihagynunk, mert hiszen a fenolázban a peroxidáz + peroxidrendszer már készen van.

Így pl. ha a lakkáz oxidáló képességének meghatározásáról volna szó, a következőképpen járunk el:¹

Négy Erl en m e y e r-lombikot 1 g. pyrogallol jelenlétében változó mennyiségű lakkázoldattal elegyítünk, majd a folyadékot 40 cm³-re hígítjuk. A kísérletsorozat legyen pl. a következő:

	I.	II.	III.	IV.
Pyrogallol	1 g.	1 g.	1 g.	1 g.
Lakkázoldat... ..	10 cm.	20 cm.	30 cm.	40 cm.
Víz	30 cm.	20 cm.	10 cm.	0 cm.

24, 30, vagy 48 óra mulva a peroxidáznál leírt módon kivált purpurogallin mennyiségét meghatározzuk. Az alkalmazott koncentráció-viszonyok mellett az $ax + b$ kifejezés számot ad a lakkáz oxidáló képességéről. A kifejezésben a a levált purpurogallinmennyiséget 1 koncentráció mellett, x az 1, 2, 3, stb. koncentrációkat jelenti, b pedig állandó.

A pyrogallussav helyett előnyösen alkalmazhatunk telített p-krezol-oldatot is, pl. a következő sorozat szerint:

Lakkáz-oldat	Víz	p-krezol-oldat	Képződött csapadék	
			1. kísérlet	2. kísérlet
10 cm ³	30	10	0·0210	0·019
20 cm ³	20	10	0·0285	0·029
30 cm ³	10	10	0·0425	0·0375
40 cm ³	0	10	0·0431	0·0482

A csapadék kimosására 50 cm³ vizet használjunk föl.

A fenolázok sajátságai és működésük.

Chemiai tulajdonságaikról semmit sem tudunk. Úgy látszik, a legkülönbözőbb természetű anyagok. A Ber tr a n d-féle lakkáz pl. főtömegé-

¹ Ch o d a t R.: Archiv des sciences physiques et naturelles, 19., májusi füzet (1905); A b d e r h a l d e n's Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, III. kötet, 55 lap.

ben szénhidrátokból áll, amelyek hydrolízis alkalmával galaktózt és arabinózt, továbbá mangánban gazdag hamut szolgáltatnak. Ezzel szemben pl. a medicagoban előforduló fenolázban Euler és Bolin a citromsavnak, almasavnak, mesoxálsavnak és valószínűleg a glykolsavnak kalcziumsókeverékét találták. A retek oxidáza Rosenfeld szerint nem proteinszerű anyag, viszont nem tartalmaz se vasat, se mangánt. A növényi eredetű fenolázok vízben és gliczerinben oldhatók, az állati eredetűek, úgy látszik, vízben oldhatatlanok. A vízben oldható enzimek egyrészét alkohollal vagy ammóniumsulfáttal kicsaphatjuk. A melegítést a fenolázok nem bírják el, mert a peroxid-alkotórészük, vagyis az oxigenáz már kb. 60 C⁰-on tönkremegy, s csak a sokkal ellentállóbb peroxidáz marad meg. A különféle anyagok befolyása a fenoláz működésére még nem forrott ki annyira, hogy összefoglalóan lehetne róla szólni. A legtöbb kísérletező e hatást tanulmányozta, anélkül, hogy a kísérleti körülményeket kellőképpen figyelembe vette volna.

Peroxydáz (más néven *peroxidiasztáz, anäroxidáz, leptomin*).

Jellemzés: A peroxidáz a hidrogénhyperoxidot és egyéb peroxidot elbontja és egyúttal a jelenlevő és kémlőszerű használt organikus vegyületeket (hydrochinon, pyrogallol, guajakol stb.) oxidálja. Lényegesen különbözik a kataláztól abban, hogy az elbomlott hidrogénhyperoxidból hatásos oxigént képes fejleszteni, míg a kataláz csak egyszerű, hatás-talan oxigengázt szabadít föl. A peroxidázok önmagukban a legcsekélyebb oxidáló hatásra sem képesek, csakis akkor, ha peroxidok vannak jelen. Hogy tehát a peroxidázok működésüket az élő szervezetben kifejthessék, peroxidokra van szükség. Ezek a peroxidok az ú. n. oxigenázok, amelyekkel együttesen a peroxidázok a *fenoláz-rendszert* adják.

Előfordulásuk. A növényvilágban lépten-nyomon találunk peroxidázokat; az állatvilágban is igen sok adat állítja a peroxidázok jelenlétét, azonban a legtöbb esetben ezek az adatok nagyon kétségesek, mert a kimutatás nehézségekbe ütközik. Elsősorban is a guajakgyanta-reakció vérmáradékok jelenlétében hasznavehetetlen. Az sem bizonyos, hogy a jódhidrogénes módszer valóban bizonyítja-e a peroxidáz jelenlétét, mivel a haematin maga katalitikusan bontja a jódhidrogént. Másik nehézség az, hogy a használt hidrogénhyperoxidot a mindenütt jelenlevő kataláz azonnal elbontja. Éppen ezért Battelli a hidrogénhyperoxid helyett aethylperoxidot használ, amely a katalázzal szemben ellentálló.

*A peroxidáz előállítása.*¹ Torma gyökeréből kb. 5 kg.-ot géppel lehetőleg apróra szétvagdalkunk, s a tömeget néhány óráig állani hagyjuk, hogy a glükozidok enzimés bomlása teljes legyen, majd pedig néhány napig 96⁰/o-os alkohollal pállítjuk, miközben az illó olajok feloldódnak.

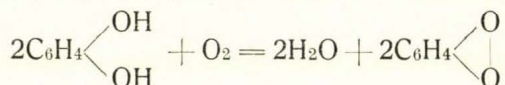
¹ B a c h és C h o d a t: Berichte der deutschen chem. Gesellsch., 36, 600 (1903) 1.

A vörösszínű oldatot leöntve, a maradékot 80%-os alkohollal mossuk, kisajtoljuk, majd 10 liter 40%-os alkohollal 5 napig hagyjuk állani. A kisajtott tömeg levét szűrés után erős alkohollal addig keverjük, amíg erős zavarodás mutatkozik, amihez az oldat térfogatának kétszeresénél valamivel kevesebb alkohol szükséges. A fehér, vagy szürkésfehér csapadékot vízben oldjuk, alkohollal ismét kicsapjuk, majd kénsav fölött vákuumban megszáritjuk. A készítmény a kiinduláskor használt anyag 1—2%-a szokott lenni. Ha nagyobb mennyiség áll belőle rendelkezésre, a vízben való oldást és kicsapást többször megismételhetjük, miközben a cukornemű anyagokat, továbbá az ásványos alkotórészeket távolíthatjuk el, s a végső, amorf barna termék hatásossága erősödik. Dialízis útján is fokozhatjuk a készítmény hatásosságát; e művelet közben azonban az anyagvesztés oly nagy, hogy a módszer kivitele nem előnyös. A száraz készítmény különösen vákuumban kénsav fölött több mint 2 évig baj nélkül eltárható.

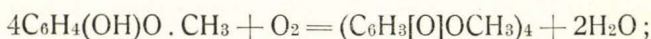
Hatásos peroxidázoldatot készíthetünk az *Iris germanica* gyökeréből, az *Asparagus officinalis* fiatal hajtásaiból és a tökmagból is.

A peroxidázok kimutatása és meghatározása.

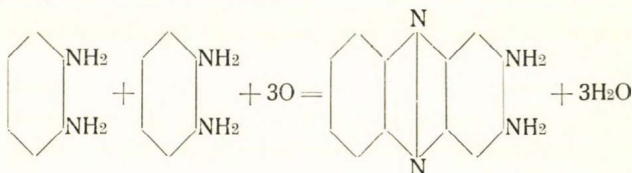
Hydrogénhyperoxid, vagy más peroxid jelenlétében a peroxidáz ugyanazokat az anyagokat képes oxidálni, mint a kész fenoláz. Az utóbbinak oxidáló képessége kifejtése végett azonban nincsen szüksége peroxidokra. A jódhidrogénnek hydrogénhyperoxiddal való oxidációját rendkívül meggyorsítja, továbbá a phenolokat és polyphenolokat oxidálja, illetőleg kondenzálja. Így a hydrochinont chinonná alakítja:



A pyrogallolból purpurogallint létesít, a guajakolból tetraguajachinont:



az orthophenylendiaminból pedig diaminophenazint:



A peroxidokra igen jó kémilőszerek a krezolok. Az o-krezol híg oldatával hydrogénhyperoxid jelenlétében a peroxidáz zöld, tömény oldatokban pedig piszkosbarna színeződést ad, míg a m-krezol hússzínű reakciót, p-krezol pedig tejes zavarodást idéz elő. Különösen az o- és

p-krezollal létesített reakciók nagyon határozottak és különlegesek. A kémlőszereket azonban híg oldatban lehet csak használni, mert a peroxidáz hatását különben tompítják. A kimutatás céljaira legjobb 0·1—1⁰/₀-os hidrogénhyperoxid és 1⁰/₀₀-es krezol oldatát alkalmazni. 1 : 10,000 hígításban a reakció még határozott. Ha a peroxidáz mennyiségét legalább némi közelítéssel szintén meg akarjuk itélni, czélszerű hidrogénhyperoxid helyett aethylhydroperoxidot használni, mivel a nagyon gyakran jelenlévő kataláz a hidrogénhyperoxidot elbontja, s ezzel megakadályozza azt, hogy az teljesen résztvehessen a reakcióban.¹

Az aethylhydroperoxidtartalmú alkoholt könnyen készíthetjük, ha 100 g. diaethylszulfátot 115 g. 30⁰/₀-os hidrogénhyperoxidoldattal, 175 g. káliumhydroxiddal és 600 cm³ vízzel addig rázzuk, míg a diaethylszulfát eltűnik s most megsavanyítva a tömeget, vákuumban való desztillálásnak vetjük alá. Másodszori desztillálás után 265 g. folyadékot kapunk, amely a jodometriás titrálás adatai alapján 2·47⁰/₀ aethylhydroperoxidot tartalmaz. A hidrogénhyperoxid nyomai sem fedezhetők föl benne (titánkénsavval). A folyadék sok alkoholon kívül eczetsavnyomokat is tartalmaz.

A peroxidázok kimutatására a régebben nagyon kedvelt guajakgyantás reakció egyáltalában nem ajánlatos, mert legtöbbször peroxidot tartalmaz, miért is tévedésekbe ejthet. A pyrogallussavat is lehetőleg friss állapotban kell alkalmazni, mert a levegőn oxidálódik.

A peroxidáz hatásfokának megállapítását a pyrogallussavas reakció segítségével végezhetjük.² Eczélből 10 próbát készítünk, amelyek mindegyikében 35 cm³ vízben 1 g. tiszta pyrogallussav van feloldva. Miután minden próbához 10 cm³ 1⁰/₀-os hidrogénhyperoxidot öntöttünk, különböző és fokozatosan növekedő peroxidázmennyiségekkel elegyítjük az oldatokat, melyeket 50 cm³-nyire hígítunk föl.

Például szolgáljon a következő kísérlet:

A próba sorszáma	Pyrogallol g.-okban	1 ⁰ / ₀ hydrogénhyperoxidoldat cm ³ -ekben	Peroxidáz	Képződött purpurgallin g.-okban
1.	1	10	0·01	0·021
2.	1	10	0·02	0·042
3.	1	10	0·03	0·066
4.	1	10	0·04	0·086
5.	1	10	0·05	0·102
6.	1	10	0·06	0·123
7.	1	10	0·07	0·145
8.	1	10	0·08	0·166
9.	1	10	0·09	0·162
10.	1	10	0·10	0·162

¹ Baeyer és Villiger: Berichte 34, 738 l. (1901); Bach és Chodat: Berichte 36, 1758 (1903). l.

² Chodat R. és Bach A.: Berichte 36, 607 l. (1907). Biochemisches Zentralblatt I, 417 l. (1903).

A peroxidáz hozzáadása után a folyadék nemsokára megbarnul és a purpurogallin kiválása megkezdődik. 12 órai állás után a képződött purpurogallinsapadékot előzőleg lemerít szűrőkön összegyűjtjük, 50 cm³ vízzel kimossuk és 100 C⁰-on való szárítás után mérlegeljük. Most második kísérletsorozatban a hydrogenhyperoxid mennyiségét változtatjuk, míg a peroxidáz mennyisége minden próbában ugyanaz marad, mint azt a következő sorozat mutatja:

A próba sorszama	Pyrogallus- sav g.-okban	1%-os hyd- rogénhyper- oxidoldat cm ³ -ekben	Peroxidáz	Képződött purpuro- gallin g.-okban
1.	1	1	0.10	0.0205
2.	1	2	0.10	0.042
3.	1	3	0.10	0.060
4.	1	4	0.10	0.078
5.	1	5	0.10	0.099
6.	1	6	0.10	0.121
7.	1	7	0.10	0.141
8.	1	8	0.10	0.168
9.	1	9	0.10	0.168
10.	1	10	0.10	0.163

A két kísérletsorozatból könnyen ki lehet olvasni, hogy a peroxidáz hatása és a hydrogenhyperoxid mennyisége között állandó viszony van. Ha pl. n mennyiségű peroxidáz m mennyiségű hydrogenhyperoxidot képes elbontani, akkor $2n$ peroxidáz $2m$ hydrogenhyperoxidnak felel meg és így tovább. Ez arra mutat, hogy a peroxidáz a hydrogenhyperoxiddal a peroxidáz—hydrogenhyperoxid chemiai rendszert alkotja. A képződött purpurogallinmennyiség ezzel a rendszerrel egy ideig egyenesen arányos, amíg bizonyos határértéket el nem ér, amelyen túl a képződött purpurogallin mennyisége már nem növekszik. Ez a határ a jelenlévő pyrogallussav emelkedésével szintén emelkedik, mint azt a következő táblázat mutatja:

Pyrogallol g.-okban	1%-os hyd- rogénhyper- oxidoldat cm ³ -ekben	Peroxidáz	Purpuro- gallin g.-okban
1.	10	0.10	0.166
2.	10	0.10	0.203
3.	10	0.10	0.205
4.	20	0.20	0.401

Hasonló kísérletekből kiderült, hogy a hydrogenhyperoxid koncentrációjának bizonyos határon túl nem szabad emelkednie, mert a peroxid hatása ilyen módon csökkenik, különösen akkor, ha a peroxidát

előzőleg többszörösen tisztítottuk. Legjobban megfelel 0.1—0.2% hidrogénhyperoxid jelenléte.

A pyrogallussav nagy mennyiségben szintén hátrányos. Bach¹ szerint ismeretlen peroxidáz hatásfokának megállapításakor czélszerűen úgy járunk el, hogy a vákuumban megszáritott anyagból 0.30 g.-ot 30 cm³ vízben oldunk, az oldat 5 cm³-ét 20 cm³ 1%-os hidrogénhyperoxiddal és 1.5 g. pyrogallollal elegyítjük, majd 100 cm³-re hígítjuk és a kivált purpurogallint 12 óra múlva leszűrjük, 200 cm³ vízzel ki-mossuk és 105 C°-on való szárítás után lemérjük.

Másrészt 100 cm³ 1%-os hidrogénhyperoxidoldatot az előbb készített peroxidáz oldatának 25 cm.-ével és 1.5 g. pyrogallollal hagyunk állani, ismét 100 cm³-re való hígítás után, különben pedig úgy járunk el, mint az előbbi próba esetében. Ha a a hidrogénhyperoxid fölöslege mellett alkalmazott peroxidázmenyiség és m a képződött purpurogallin-mennyiség, továbbá b a peroxidáz fölöslege mellett alkalmazott peroxidáz mennyisége, n pedig az ennek megfelelő purpurogallin mennyisége, akkor $\frac{bm}{n}$ az a hidrogénhyperoxidmennyiség, amely a peroxidázmenyiség-gel reakcióba lépett és $\frac{bm}{an}$ a kérdéses peroxidáz hatásfoka.

Ha a mérendő purpurogallincsapadék kevés, akkor aszbeszten szűrjük a purpurogallint, azután tömény kénsavval kioldjuk és az oldatot 6—8-szoros mennyiségű vízzel való hígítás után káliumpermanganáttal megtitráljuk.

Az ú. n. jódkáliumos keményítőpróba szintén alkalmas mennyiségi meghatározásokra. Elve az, hogy gyengén megsavanyított jódkálium-oldatnak hidrogénhyperoxid hatására történő oxidációját a peroxidázok rendkívül gyorsítják. Az ekképpen szabaddá vált jódot keményítővel kimutathatjuk és tioszulfáttal megtitrálhatjuk. A meghatározás kiviteléhez 2%-os tiszta káliumjodidoldat, 1%-os eczetsav, 1%-os keményítőoldat és hígított hidrogénhyperoxidoldat szükséges. Utóbbit akképpen készítjük, hogy a 3%-os hidrogénhyperoxid 5 cseppjét, 20 cm³ vízzel hígítjuk. Végül a jód titrálásához szükségünk van még $\frac{1}{100}$ normál nátriumtioszulfátoldatra.

Közvetlenül a kísérlet előtt 10 cm³ káliumjodidból, 2 cm³ eczetsav-oldatból és 1 cm³ keményítőoldatból keveréket készítünk és ebből 5—5 cm³-nyit 20 C°-os, vízfürdőben elhelyezett lombikokba öntünk. Most az egyik próbához 2—10 cm³ peroxidázoldatot, a másikhoz, amelyet ellenőrzésre használunk, ugyanannyi vizet öntünk és azután mindegyikbe pontosan 1 cm³ hidrogénhyperoxidot keverünk. 10—30 percz elteltével

¹ Bach, Berichte, 37, 3787 l. (1904), Choda t módosításával.

mindkét lombik tartalmát megcitráljuk, amíg a kék jóreakció teljesen eltűnik és az ellenőrző próbára elfogyasztott tioszulfát cm^3 -számát a valódi próba adatából levonjuk.

A meghatározásmód növényi részek peroxidtartalmának megállapítására igen jó szolgálatokat tesz. Állati eredetű peroxidázoknál a módszer felmondja a szolgálatot; valószínűleg azért, mert a proteinben gazdag enzímoldat a jódot jódpoteinalakban leköti és így az indikátorként használt keményítőnek kevés, vagy semmi sem jut belőle.

Az állati eredetű peroxidázok kimutatására, illetőleg meghatározására a *leukomalachitzöld-módszert*¹ alkalmazhatjuk. Lényege az, hogy a színtelen, vagy rendkívül gyengén zöldes színű leukomalachitzöldoldat igen hosszú ideig változatlan marad még hydrogenhyperoxid jelenlétében is. Ha azonban az oldathoz állati vagy növényi eredetű peroxidázt keverünk, nemsokára smaragd zöld színű oldat keletkezik. A létesült *malachitzöldet* spektrofotometriás úton mennyiségileg meghatározhatjuk. A szükséges oldatokat úgy készítjük, hogy 1 g. leukomalachitzöldet 50 cm^3 jégeczetben oldunk s az oldatot vízzel 500 cm^3 -re hígítjuk. Használatkor ezt az oldatot még tízszeres térfogatra hígítjuk. Ezenkívül készítünk még 0.1—0.5%-os hydrogenhyperoxidoldatot.

A kérdéses peroxydázoldat 2—5 cm^3 -ét 20 cm^3 leukomalachitzöldoldattal és 1 cm^3 hydrogenhyperoxidoldattal elegyítjük. Tíz perc múlva már meghatározhatjuk a létesült malachitzöld mennyiségének megfelelő fényabszorpcziót a Glan-féle spektrofotométerrel. A talált malachitzöld mennyisége egyenesen arányos a jelenvolt peroxidáz mennyiségével. Ha a malachitzöld koncentrációját közvetlenül ki akarjuk számítani, akkor a $C = A \cdot E$. egyenletet alkalmazzuk, amelyben A a malachitzöld abszorpcziós tényezőjét jelenti ($= 0.000287$), az E -t pedig az $E = -2 (\log \cot \alpha + \log \cot \beta)$ egyenlet alapján kaphatjuk meg. A két szög közül az α a világosságpontot méri, vagyis a nikollnak azt az állását, amely a maximális világosságnak felel meg, ha nincs elnyelő folyadék-réteg a készülékben, β pedig az észlelt nikollállást jelenti fokokban.

A peroxidázok tulajdonságai. A Bach és Chodat-féle eljárás szerint készített peroxidáz kissé higroszkópos, vízben könnyen oldható, fehér vagy szürkés por, amely a proteinekre jellemző reakciókat nem adja. Oldatát nátronlúggal forralva, előbb ammónia, majd pyridinre emlékeztető szagot árasztó bázis illanik el. Mindig tartalmaz 3.4—6.7% nitrogént. Rövid ideig tartó forralás után néhány óra múlva hatásosságát részben visszanyeri.

A káliumcyanid jelenléte nem káros, cyanhydrogensavból, továbbá hydroxilaminból és hydrazinból is nagyobb adagok kellenek, hogy a

¹ Czylhartz és Fürth: Hofmeisters Beiträge 10, 358 l. (1907).

peroxidáz működését megakaszszák. Eme tulajdonságai alapján a peroxidázt valóban chemiai vegyületnek lehetne tekinteni. Strychnin, brucin, chinin tompítják a peroxidáz hatását, a többi alkaloid ellenben alig, vagy semmit sem káros.

Alkalikarbonátok és nitrátok jelenlétében a peroxidáz a pergamenten áthatol. Phenolphtaleinnel szemben semleges oldatban csaknem veszteség nélkül szűrhető a porcellánszűrőn keresztül; methylorange-zsal szemben semleges oldatban alig hatol át.

A nap látható sugarai kissé káros hatással vannak a peroxidázra, de csak oxigén jelenlétében, míg az ibolyántúli sugarak még oxigén hiányában is erőlyesen tompítják a peroxidáz működését. A látható sugarak hatását az eozin és bengáli vörös fokozzák, a methylenkék és dichloranthracendisulfosavas nátrium csökkentik. Az ibolyántúli sugarak káros hatását viszont az eozin rendkívül leszállítja. Ostwald Wolfgang vizsgálatai szerint a peroxidáz hatásossága gyöngye megvilágításkor fokozódik, még pedig úgy, hogy az enzim mennyisége növekszik. E tekintetben az ibolya és fehér fény sokkal kedvezőbb, mint a sárga. A peroxidáz a zymáz hatását nagyon lerontja. Viszont a kataláz a peroxidáz ellen dolgozik, de a hatás csak addig feltűnő, amíg a két enzim csekély mennyisége áll egymással szemben; a káros hatás később, a kataláz mennyiségének emelkedésével nem növekszik rohamosan. Nagy mennyiségű kataláz jelenléte befolyással van ugyan a peroxidáz működésére, de azt teljesen megakasztani nem tudja.

Gessard¹ a *Russula delica* kisajtolt levét fecskendezte be házi-nyulak vérebe. Az állatok vérsavója nemsokára a *Russula* peroxidáz ellen működött, a maláta peroxidázra ellenben hatástalan volt. Malátakivonattal való befecskendezés után a vérsavó a malátaperoxidáz működését lassította meg.

Oxigenázok.

Könnyen oxidálódó organikus halmazok, amelyek a levegő oxigénjével közvetlenül egyesülnek peroxidtermészetű vegyületekké, melyeknek összetétele Bach és Chodat szerint az:



általános képlettel fejezhető ki, ahol *R* tetszésszerinti és egyelőre ismeretlen organikus maradékot képvisel. Nincsenek meggyőző bizonyítékaink arra vonatkozólag, hogy enzimek volnának, itt tehát csak didaktikai szempontból tárgyaljuk őket. Ezek azok az anyagok, amelyek a peroxidázokkal egyesülve, oxidáló hatásokra képesek. Készen találjuk őket

¹ Gessard: Comptes rendus de la soc. de Biologie 60, 505--506 l. (1906); 61, 425--427 l. (1906).

a peroxidázokkal összekapcsolva a fenolázokban, illetőleg a lakkázban, majd pedig a tyrosinázban. Az igazi peroxidázoknál ellenben a természetes oxigenázokat mesterséges és egyszerűbb összetételű peroxidokkal pótolhatjuk, hogy ugyanazt a hatást váltsuk ki, amelyet a fenoláz végez. Ebből láthatjuk, hogy az oxigenázok és peroxidok között mindössze csak annyi a különbség, hogy az utóbbiak kémiai szerkezetét ismerjük, míg az oxigenázoknál előttünk ismeretlen organikus maradékkal van dolgunk, amely viszont olyan érzékeny természetű, mintha enzim volna.

Az oxigenázok a természetben meglehetősen elterjedtek. Előfordulnak az élesztő kisajtott nedvében, még pedig nagyobb mennyiségben a felső, mint az alsó erjesztésű élesztőben, azonkívül különböző gombák levében. Nagyon sok növény tartalmaz ezenkívül oxigenázokat, legtöbb esetben azonban redukáló anyagok jelenléte folytán fölismerésük nem egészen akadálytalan. Számos növény tejnedvében és a kaucsukban, továbbá igen sok növény magvában is megtaláljuk az oxigenázokat. Az állati szervezetek is bővelkednek benne. A rák haemolymphájában, a béka-álczában, a házinyúl és tengerimalacz bőrében, a nyálban, a takonyban, az ondóban, az epében. a ló vérplazmájában, a leucocytákban és a placentában mindenütt találtak oxigenázokat.

Előállításuk ammóniumszulfáttal fölváltva alkalmazott kicsapáson, dialízisen és alkohollal való kicsapáson alapszik.

Kimutatásukra legcélszerűbb a jódkálium-keményítőpróba és a baritvízpróba.

1. *Jódkáliumkeményítőcsiriz.* Legelőnyösebb a kémlőszert papirossal felitatni és jódkeményítőpapiros alakjában használni. Mivel a növény-metszetek kémhatása rendesen savanyú, a jódkiválás pedig nem a jódkáliumból, hanem éppen a jódhidrogénből történik, a metszetek lenyomata egyenesen adja a jódreakciót, ami a peroxidok jelenlétét bizonyítja. Növénynedvekkal sokszor nem sikerül a kísérlet, amennyiben ezek gyakran tartalmaznak jódot megkötő anyagokat. A próba természetesen csak akkor bizonyító erejű, ha a metszetekben nitríteteket kimutatni nem tudunk. Első föltétel, hogy a kísérlethez mindig csak teljesen friss növényrészeket, vagy növénynedveket használjunk.

A jódkálium-keményítőpróba mennyiségi meghatározásokra is alkalmas, amennyiben a kivált jódot thioszulfátoldattal megtitrálhatjuk.

2. *Baritvízpróba.*¹ Alkalmazására legjobb példa a *Lathaea squamaria* gyökérparazitának a kisajtott leve, mely igen dús oxidázokban. Ha a folyadékon levegőt hajtunk keresztül és 1%-os baritvizet csepegtetünk bele, báriumhyperoxid-csapadékot kapunk, amelyet szűrés és kimosás után hígított ecetsavval elbontunk. A hyperoxid nem adja a titánkén-

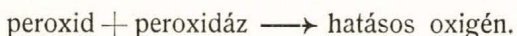
¹ Chodat R. és Bach A.: Berichte, 36, 606 I. (1903).

savas reakziót, ellenben igen erősen megkékíti a jódkáliumos keményítő-papírost. Mivel a salétromsavra való kémlelés negatív marad, az erős jódkiválasztást csakis némely acylhyperoxid-származék jelenlétének tudhatjuk be.

Alkalmazhatunk az oxigenázok kimutatására olyan módszereket is, amelyeket a peroxidázok kimutatása és meghatározása során leirtunk; csak gondoskodnunk kell valódi peroxidázról, amely oxidáló hatását csakis peroxid mesterséges hozzáadása után fejtheti ki. A vizsgálat alkalmával azután a peroxidot a kérdéses oxigenázzal pótoljuk.

Ezek a peroxidtermészetű anyagok maguktól nagyon gyengén hatnak, ellenben a jelenlevő peroxidáz a reakciósebességet rendkívül meggyorsítja.

A Bach-Chodat-féle elmélet szerint a peroxidáz mindig a következő séma szerint eredményez hatásos eredményt:



Az oxigenázok tulajdonságaira vonatkozólag részletes ismereteink nincsenek. Az ásványsavak, alkáliák, nátriumfluorid, mercurichlorid hatásukat megakasztják; cserzőanyagok és cukor megakasztják a folyamatot. Általában 70 C° körül elpusztulnak; ha tisztább készítményekkel dolgozunk, ez az állapot még hamarabb bekövetkezik.

Némely adat mellett szól, hogy bizonyos oxigenázok zymogénalakban vannak jelen a természetben. Ezek a zymogének a meleggel szemben sokkal állandóbbak, mint maguk az oxigenázok.

Hangyasavperoxidáz.

Peroxidok jelenlétében a hangyasavat széndioxiddá oxidálja. Battelli¹ az állati szervek mindegyikében megtalálta.

Tyrosináz.

A tyrosináz-enzimet Bertrand G. írta le először.

Különös ismertető jele, hogy a tyrosint oxidáció folytán először rózsaszínű, majd piszkos ibolyaszínű termékekké alakítja, végül fekete, úgynevezett melanin-pigmentcsapadék válik le az oldatból. Hogy miféle kémiai átalakulások mennek ilyenkor végbe, arra vonatkozólag egyelőre bizonyosat nem mondhatunk. A tyrosináz hatása különben nemcsak a tyrosinon érvényesül, hanem oxidál más anyagokat is, amelyek azonban többnyire megegyeznek abban, hogy phenolhydroxilt tartalmaznak. A tyrosináz e tekintetben tehát közel áll a lakkázhoz, illetőleg a fenolázokhoz, de az utóbbiak egyike sem képes a tyrosin oxidációját

¹ Battelli: Comptes rendus, 138, 651 l.

kiváltani. Viszont a tyrosináz hatástalan a guajakgyantára és guajakolra, továbbá a pyrogallol oldatában purpurogallinacsapadékot sem idéz elő, bár a sárgavörös színeződés éppen úgy, mint a lakkáz esetében, mutatkozik.

A tyrosináz előfordulása. A tyrosináz igen gyakori a lakkáz társágában számos gombában: *Russula delica*, *nigricans*, *Agaricus melleus*, *campestris*, *Lactaria* stb. Némely mikroorganizmus pl. a *Bacillus pyocyaneus*, *Vibrio cholerae*, *Actinomyces chromogenes*, stb. szintén tartalmazza. Előfordul továbbá a cukorrépában, a burgonya héjában és némely gummifajtában. Az állatvilágban is sok esetben megtalálták, így a szivacsokban, a *Sepia officinalis* tintazacskójában, a selyemhernyó haemolymphájában, számos rovar álczájában, a folyami rák vérében, a fejlábúak bőrében, szemében és petéiben, a sötét pigmentummal ellátott halak és békák bőrében, fiatal patkányok, házinyulak, tengerimalaczkok és tyúkok bőrében, továbbá a lónak és az embernek melanotikus daganataiban.

A tyrosináz előfordulásának viszonyai arra vallanak, hogy az enzim a sötétszínű pigmentumok képződésében fontos szerepet játszik. Amíg azonban a melanintermészetű anyagok kémiai tulajdonságait olyan homály fedi, mint mostanáig, a következtetés nem bír teljes bizonyító erővel.

A növényi és állati eredetű tyrosináz valószínűleg különböző enzimek, emellett szólnak legalább *Gessard* kísérletei. Ő a házinyulak bőre alá növényi eredetű, majd pedig a *Sepia* tintazacskójából származó tyrosinázt fecskendezett be. A kísérleti állatok vérsavója a tyrosináz működését nemsokára meglassította, de mindig csak arra a tyrosinázra volt reakciót csökkentő hatással, amelylyel a befecskendezés történt. A jelenség amellet szól, hogy az állati tyrosináz antianyaga a növényi tyrosinázra hatástalan és megfordítva.

1. *Tyrosináz előállítás burgonyából.*¹ 7–8 kg. burgonya héját alkohollal való megnedvesítés után legczélszerűbben húsvágógépen apróra vagdaljuk és a tömeget lehetőleg kisajtoljuk. A levét egyenesen 94%-os alkoholba csurgatjuk bele, miközben nagy térfogatú, laza csapadék válik ki, amelynek leülepedése után az alkoholos anyalúgot leöntjük, a csapadékot szűrőre visszük és még azon nedvesen a szükséges mennyiségű vízzel toluol jelenlétében zárt edényben 24 óráig állani hagyjuk. A megszűrt tömeget tömény alkohollal kezeljük és a képződött csapadékot szűrőn összegyűjtve, alkohollal mossuk, majd még nedvesen agyagtányérokra kenve, vákuumban kénsav fölött lehetőleg gyorsan megszáritjuk. A termék tyrosinázon kívül még peroxidázt is tartalmaz. Vizes oldata toluol jelenlétében több napig hatásos marad, azonban ajánlatosabb az oldatot mindig frissen készíteni, mert az oldat állás után gyengül.

¹ *Chodat*: Travaux de l'Institut de Botanique de l'Université de Genève [8] 1. füzet (1908). Lásd *Abderhalden* E.: Biochemische Arbeitsmethoden III, 57 l.

2. *Tyrosináz előállítása gombából.* Legalkalmasabb e célra a *Lactarius vellereus*, mely lomberdőben tömegesen fordul elő és könnyen fölismerhető. Egy délután minden nehézség nélkül összeszedhetünk belőle 50 kg.-nyit. A gombát, amilyen gyorsan csak tudjuk, húsvágógépen összevagdaltjuk és a nyálkás tömeget kisajtoljuk, majd a levét alkoholba öntjük. A bőséges csapadékot vászonszűrőn összegyűjtjük, toluol jelenlétében még nedvesen vízzel 2 napig lúgozzuk, a szüredéket alkohollal ismét kicsapjuk s a keletkezett csapadékot még egyszer ugyanúgy tisztítjuk, majd kénsav fölött agyagtányérokon vákuumban lehetőleg gyorsan megszáritjuk. Az így készített nyers tyrosinából 50 g.-ot finomra dörzsölünk el, toluol jelenlétében 500 cm³ vízzel 48 óráig kezeljük, a szűrletet 2 liter 90%-os alkohollal keverjük, rövid idő múlva a csapadékot összegyűjtjük, kevés vízben oldjuk, három térfogat alkohollal kicsapjuk, összegyűjtjük és az előbb leírt módon megszáritjuk. A készítmény sem lakkázt, sem peroxidázt nem tartalmaz.

Hogy kísérleteink folyamán kifogástalan és biztos eredményeket kapjunk, kizárólag az így előállított készítményekkel kell dolgoznunk és lehetőleg mellőzzük a gombákból vagy a tintahalból előállított nyers tyrosináztermékeket, amelyek peroxidázokat és aminosavakat tartalmaznak, minek következtében a kísérletek és eredményeik is illuzóriusakká válnak. A nyers tyrosinázkészítmények használata okozta azt, hogy a legtöbb eddigi szerző kísérletei ellenőrzésre szorulnak és többé-kevésbé megbizhatatlanok.

A tyrosináz kimutatása. A tyrosináztartalmú nedvekben legtöbbször a tyrosin maga is előfordul, miért is kimutatásakor közvetett módszerre szorítkozunk. E célból a kérdéses folyadékot 1⁰/₀₀—1⁰/₀-os p-kresololdattal keverjük és nátriumkarbonáttal gyengén lúgossá teszszük. Tyrosináz jelenlétében a próba nemsokára sárga, majd narancsvörös, végül vörös lesz; ha teljesen hasonló módon kezelt ellenőrző próbába csekély mennyiségű glykokollt tettünk, akkor a reakció meggyorsul és a vörös szín hamarabb mutatkozik.

A tyrosináz oxidálóképességének meghatározását többen megkísérelték anélkül, hogy az eredmény kielégítő lett volna. V. Fürth O. és Jerusalem E. a tyrosinból képződött melanincsapadék térfogatából, majd a pigment spektrofotometrikus vizsgálata útján igyekeztek a tyrosináz működését pontosan követni. Eddig egyetlen jó módszer a tyrosin oxidációjából képződött termékeknek kénsavas oldatban káliumpermanganáttal való megtitrálásán alapszik.¹ A kísérletet úgy végezzük, hogy 8 pohárba, amelyek mindegyikében 10 cm³ olyan oldat van, amely 0.05% tyrosint és 0.04% nátriumkarbonátot tartalmaz, az enzim-

¹ Bach A.: Berichte, 41, 221 l. (1908).

oldatból fokozatosan növekedő mennyiségeket (0·5, 1, 1·5, 2, 5, 10, 15, 20 cm³) öntünk, majd valamennyi próbát 24 óráig pihentetjük és 1 cm³ 10⁰/o-os kénsavval való megsavanyítás után addig csöpögtetünk bele 0·002 n. permanganátoldatot, amíg az oldat elszíntelenedett. Az első kísérlet-sorozattal egyidejűleg teljesen hasonlót állítunk be, amelyet 48 óra múlva titrálunk meg. Egy tényleges kísérlet eredménye a fent megadott enzim-mennyiségekkel például a következő volt:

	Elhasznált permanganátoldat cm ³ -ekben							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Enzimkoncentráció	0·5	1·0	1·5	2·0	5·0	10·0	15·0	20·0
24 óra múlva	10·8	14·2	17·3	19·8	25·8	30·4	33·6	35·8
48 óra múlva	13·2	16·0	17·8	20·4	25·6	31·2	34·4	35·4

A tyrosináz tulajdonságai. A tyrosináz a tyrosinon kívül számos más anyagot is oxidál. Ilyenek: p-oxiphenylaethylamin, p-oxiphenyl-methylamin, p-oxiphenylamin, p-oxiphenylpropionsav, p-oxiphenyl-ecetsav, p-oxibenzoészav, phenol, aethyltyrosin, chloracetyltyrosin, d, l és dl-adrenalin, homogentiánsav, stb. A p-kresol 1⁰/o—1⁰/o-os oldatával semleges vagy gyengén lúgos oldatban arany-sárga színeződést ad, amely vörösbe nem megy át, csak akkor, ha glykokoll, alanin, leucin, stb. aminosavnyomok (1/100,000) vannak jelen. A vörös színeződés tehát aminosavakkal szennyezett tyrosinázkészítmények fölismerésére alkalmas. A vörös oldat alulról fölfelé ibolya, végül kék színbe csap át. A végső szín-árnyalat fémes, fuchsin-vörös dichroismussal. A tyrosináz oxidálja a tyrosintartalmú polypeptideket is, a színreakció azonban ezeknél más, mint a tyrosinnál: előbbieknél zöld-kékeszöld, míg a tyrosinnál a már említett vörös. Ezt a sajátságot a peptikus és tryptikus enzimhatás fölismerésére használhatjuk föl.

A tyrosináz működésében a tömeghatás törvényének hódol. Az enzim-mennyiség és az idő szorzata állandó értéket ad; a jelenlévő tyrosin mennyisége fordítva arányos az idővel; a reakciótermék pedig az enzim mennyiségével arányosan növekszik.

Hosszú ideig tartó rázás a tyrosináz hatóképességét csökkenti. Az enzim legjobban működik 0·05⁰/o szóda jelenlétében, de csakis akkor, ha a levegő oxigénjétől a reakciókeveréket nem zárjuk el. A hidrogén-hyperoxid kis mennyiségben némelykor kedvezően hat, valószínűleg azért, mert a tyrosináz hatását megakasztó anyagokat oxidálja; nagyobb mennyiségű hidrogénhyperoxid káros. Savak csekély mennyiségben is megakasztják a tyrosináz hatását. Olyan sók, amelyek phenolphtaleinnel szemben semleges, a metiloránszszal szemben lúgos kémhatásúak, ⁿ/200 oldatban alkalmazhatók legkedvezőbb eredménnyel, míg a phenolphtaleinnel

szemben lúgos kémhatású sók optimuma n_{500} koncentráció mellett van. Lúgok kicsiny mennyiségben előnyösek, de már 0.2% szóda jelenléte is káros. Mangánszulfát 1%, ferroszulfát 0.02%, dinátriumphosphat csekély mennyisége kedvező; nagyobb mennyiségű só jelenléte már lassítja a folyamatot. Hydrazin, hydroxilamin és kéksav csak nagyobb koncentráció mellett vetnek véget a tyrosináz hatásának. Glykokoll, alanin, leucin, aszparaginsav, glutaminsav és prolin lassítják a reakciót; éppen úgy viselkedik a borjú, a bárány, a sertés és a tehén vérsavója is. A búzakorpából készített tyrosináz oldata 5 percig 100 C°-on való hevítés után tönkremegy, a 95 C°-os hőmérsékletet azonban még kiállja, a gombatyrosináz ellenben 55 C°-on már lassan működik és 65 C°-on rövid időn belül teljesen elveszti hatását. Ezért lehet a gombakivonatokban föllépő lakkáz a mellette föllépő tyrosináztól 70 C°-on rövid ideig tartó melegítés segítségével megfosztani. Napfény hatására a tyrosináz, vagy a benne jelenlévő peroxidáz elgyengül, míg a rádium sugaraival szemben a tyrosináz ellentálló.

Függelék az oxidázokhoz.

Az oxidáló enzimek között még megemlítünk néhányat, amelyeknek ismerete még rendkívül hiányos. Több esetben még abban sem lehetünk bizonyosak, hogy valóban enzimhatásról van-e szó.

Morphináz. A *Russula delica* nedvében jelenlévő enzim, amely a morphint pseudomorphinná oxidálja.

Orcináz. Szintén a *Russula delica* nedvében fordul elő. Az orcint oxidálja és a folyamatot dinátriumhydrophosphat jelenléte éleníti.

Oleáz. Az olajbogyóban az olaj erjedését oxidáció útján mozditja elő. Működésére legkedvezőbb a 35 C°-os hőmérséklet, amikor széndioxid, eczetsav, olajsav, sebacinsav és egyéb zsírsavak képződnek. Ha mennyisége bizonyos határokat meghalad, az erjedés megszűnik. Hatását elősegíti a napfény.

Önoxidáz. A bor festékanyagát, az önophilsavat oxidálja. Ez a jelenség okozza a bor megtörését. A borfestéken kívül a guajakgyanta oldatát megkékíti, oxidálja a diphenyleket, még pedig az o-, p- és m-származékot fokozatosan csökkenő sorrendben. A pyrogallolt purpurgallinná alakítja át, oxidálja továbbá a gallussavat, protocatechinsavat és az amidophenolokat. Az alkoholt és az aethereket széndioxid fejlődése közben lassan szintén oxidálja. Vizes oldatából alkohollal kicsapható. Működését nátriumsalicylat és kalciumphosphat alig befolyásolják, ellenben literenkint 0.01—0.08 g. kénessav jelenléte megakasztja. Ezért lehet kénezzéssel a bor megtörésének elejét venni. Semleges oldatban 70 és 75 C° között tönkremegy, 10% alkohol jelenlétében, vagy a borban oldva már 60—70 C°-on is megsemmisül. Borkősavval a halálos hőmérsékletet még lejjebb szállíthatjuk.

IV. Kataláz.

(*Más néven szuperoxidáz vagy haemáz.*)

Jellemző tulajdonsága, hogy a hidrogénszuperoxidot oxigénre és vízre bontja. A fölszabaduló oxigén nincsen aktiválva, tehát oxidáló hatásokat nem végezhet. Lehetséges, hogy a kataláz egyéb peroxidok bomlásának reakciósebességét is meggyorsítja; az eddigi kutatások alapján azonban ezt végérvényesen kimondani nem lehet. Működése alapján neki tulajdonítják azt az élettani föladatot, hogy ha az élő szervezetben nagyon felhalmozódtak a peroxidok, miután az anyagforgalomban hivatásukat elvégezték, akkor a kataláz a károssá válható peroxidfölsleget megsemmisíti.

Elsőnek Thénard (1818) észlelte, hogy a vérnek fibrinje a hidrogénszuperoxidból oxigént szabadít föl. Ezt a jelenséget Faraday szellemes kapcsolatba hozta az anorganikus katalizátorok működésével. Mivel a kataláz minden szövetrészben és sejtkben, továbbá váladékban megtalálható, egy ideig azt hitték, hogy az enzimek egyik általános, jellegzetes tulajdonsága a hidrogénszuperoxid elbontása. Sokáig azután összefüggést véltek találni a kataláz és az oxidázok működése között, amennyiben azt hitték, hogy az oxidázok a kataláz hatására fölszabaduló oxigén segítségével végzik oxidáló reakcióikat.

Loew¹ volt az első, aki világosan kimutatta, hogy a kataláz önálló enzim, amelynek a fentjelzett szerepen kívül egyéb szerep nem jut.

A kataláz előfordulása.

A kataláz a legelterjedtebb enzim. Alig ismerünk olyan esetet, hogy élő sejtekben, vagy váladékaikban ne lehetett volna a katalázt kimutatni. Néhány esetben, amikor a kutatók a vizsgált anyagban nem találtak katalázt, valószínűleg a kataláz működését megakasztó anyagok voltak jelen. Ami a kataláz mennyiségét illeti, a különféle szervek és szövetek kataláztartalmában természetesen óriási eltérések vannak. Nem szabad azonban figyelmen kívül hagyni, hogy a kataláz működésére, jobban mint bármely más enzimre, befolyással van a közeg ionkoncentrációja. A kataláz mennyiségének meghatározásakor pedig az irodalomban található legtöbb adat ezt a körülményt figyelmen kívül hagyja, miért is még ugyanannak a szerzőnek adatai sem alkalmasak közvetetlen összehasonlításra. Fölemlíték néhány esetet, amelyekben különösen jellemző a kataláz előfordulása.

Előfordul az élesztőgombában, számos penészgombában; például a

¹ Loew: Bulletin. Department of Agriculture, Washington, 68 I. 1900; Biochemische Zeitschrift, 34, 354 (1911) lap.

tejsavat képző baktériumokban. A magasabbrendű növényekben is nagyon elterjedt, a zöld levelekben, például a dohánylevélben, a répa gyökerében, továbbá növényi eredetű tejnedvekben is megtalálták. Általánosan előfordul a gerinctelen állatokban, továbbá a halakban, bőségesen pedig a kigyók vérében. Az emlős állatok különböző szöveteiben szintén jelen van a kataláz, még pedig legnagyobb mennyiségben a májban. A vérben előforduló kataláz székhelye a sztróma; a színtelen vérsejtekben csak igen kevés kataláz van. A tejben, különösen pedig a tejfölben is van csekély mennyiségű kataláz.

A kataláz előállítása.

Gombakataláz. Üvegharang alatt nedvesen tartott, szétzúzott gubacsot állani hagyunk. Nemsokára megjelenik rajta a *Sterigmatocystis* gomba myceliuma, amely gyorsan spórákat hoz létre. A spórákat kiizzított platinadrót segítségével tápláló oldatba oltjuk, amelyben a gomba néhány nap múlva szépen kifejlődik. A tápláló oldat olyan legyen, hogy a gomba kifejlődéséhez szükséges valamennyi anyagot tartalmazza. Legczélszerűbb, ha ilyen célokra a következő 8 oldat elegyét használjuk.

- | | | | | |
|--------------------|-----|-----|-----|--|
| 1. borkősav | --- | --- | --- | 2·667 ⁰ / ₀ -os oldat, |
| ehhez hozzáadunk | --- | --- | --- | 0·267 ⁰ / ₀ magnéziumkarbonátot; |
| 2. ammóniumnitrát | --- | --- | --- | 2·667 ⁰ / ₀ -os oldat, |
| 3. ammóniumfoszfát | --- | --- | --- | 0·4 ⁰ / ₀ -os oldat, |
| 4. káliumkarbonát | --- | --- | --- | 0·4 ⁰ / ₀ -os oldat, |
| 5. ammóniumsulfát | --- | --- | --- | 0·167 ⁰ / ₀ -os oldat, |
| 6. cinkszulfát | --- | --- | --- | 0·0467 ⁰ / ₀ -os oldat, |
| 7. ferriszulfát | --- | --- | --- | 0·0467 ⁰ / ₀ -os oldat és |
| 8. nátriumszilikát | --- | --- | --- | 0·0467 ⁰ / ₀ -os oldat. |

Végül készítünk olyan nádcukoroldatot, amelynek 150 cm³-ében 35 g. nádcukrot oldunk föl.

A nádcukoroldatból 50 cm³-t véve, a nyolczféle tápsóból 25—25 cm³-t öntünk hozzá. Ily módon 250 cm³ folyadékunk lesz, amelyet naponként 10 percre felfőzéssel sterilizálunk. Mindössze háromszor végezzük a sterilizálást és akkor beleoltjuk a spórákat.

Nem várjuk be, amíg a gombatakaró spórákat hajt, hanem a tömeget üveggörrel jól összedörzsöljük és nátriumkarbonátnyomokat tartalmazó vízzel jól kioldva, megszűrjük; a szüredékből a katalázt alkohollal kicsapjuk és gyorsan megszáritjuk.

*Dohánylevélkataláz.*¹ Dohányleveleket chloroformtartalmú vízzel kivonunk és a szüretet fölös mennyiségű ammóniumsulfátoldattal elegyítjük. A képződő csapadékot dialízis útján megszabadítjuk az ammóniumsulfáttól, majd pedig megszáritjuk. A készítmény erősen kataláz-hatású.

¹ Loew O.: U. S. Department of Agriculture Report 68. sz. Washington (1900).

Vérkataláz.¹ Fibrinjétől megfosztott vért körülbelül tízszeres mennyiségű szénsavas vízzel elkeverünk, 10 órán át pihentetjük, majd a folyadékot a szilárd maradékról leszűrjük. A szűrlet 2 térfogatát 3 térfogat 95%-os alkohollal elkeverjük és a csapadékot az anyalúgtól elkülönítjük. A csapadékot vízzel kilúgozzuk, majd a szűrletet alkohollal kicsapjuk. A világosbarna csapadékot exsikkátorban megszáritjuk, szétporítjuk és vízzel kivonjuk. A szűrlet a hidrogénszuperoxidot erősen bontja. Ha száraz készítményt akarunk belőle előállítani, a folyadékot vákuumban besűrítjük és exsikkátorban megszáritjuk.

Szalonnakataláz.² Lehetőleg friss disznószalonnáról a zsírt késsel lekaparjuk és porcelláncsészében egyenlő mennyiségű vízzel és négy-szeres mennyiségű tengeri homokkal eldörzsöljük. A tömeget most 3 óra hosszat 30 C°-on állni hagyjuk, majd lehűtjük és 5 órán át 15 C°-on tartjuk. Végül a folyadékot a maradékról (kisajtolás nélkül!) leöntjük. A szűrletet 0 C°-ra hűtjük le és ismét megsűrítjük, majd a szüredéket előbb 3, majd 4, végül 5 térfogat alkohollal és 1 térfogat aetherrel elegyítjük. A csapadékot $\frac{1}{2}$ —1 óra múlva a folyadéktól elkülönítjük, kisajtoljuk és azonnal vízzel lúgozzuk ki, miközben legnagyobb része feloldódik. Most a szüredéket alkohollal ismét kicsapjuk és megszáritjuk. A készítmény kivonata erélyes katalázhatást fejt ki.

A kataláz kimutatása és hatásfokának mennyiségi meghatározása.

A kataláz kimutatása úgy történik, hogy a kérdéses folyadékhoz néhány cm³ kereskedésbeli hidrogénszuperoxidoldatot öntünk. Kataláz jelenlétében a keverékből oxigéngázbuborékok szállanak föl.

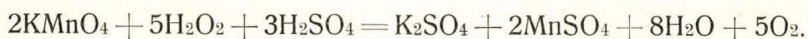
A kataláz mennyiségi meghatározása végett legczélszerűbb, ha azt határozzuk meg, hogy ismert mennyiségű hidrogénhyperoxidból mennyit bontott el a kataláz, vagyis a megmaradt hidrogénhyperoxid mennyiségét állapítjuk meg. Erre a célra a legkényelmesebb a káliumpermanganátos titrálás, vagy a jodométriás meghatározás. Mivel a kataláz-tartalmú készítményben rendszerint oxidálható, vagy pedig jódot megkötő anyagok is vannak jelen, ellenőrző kísérletet is kell végeznünk, amelyhez ugyanannyi anyagot használunk, mindössze az a különbség, hogy a kataláz-tartalmú folyadékot előzőleg felfőzzük. A két eredmény különbségének értékét az eredetileg jelenvolt hidrogénhyperoxidból levonva, megkapjuk a jelenvolt kataláz hatására elbomlott hidrogénhyperoxid mennyiségét.

A kataláz mennyiségi meghatározásakor nagyon fontos, hogy ismert ionkoncentrációval dolgozzunk, mert különben teljesen illuzórius eredményhez jutunk.

¹ Senter G.: Zeitschrift für physikalische Chemie, 44, 257 (1903) 1.

² Euler H.: Hofmeisters Beiträge, 7, 1 (1906) 1.

A *permanganátos módszer*. Elve ugyanaz, mint a hidrogénhyperoxidnak rendes térfogatós úton káliumpermanganát segítségével való meghatározására szolgáló módszeré. A reakció lefolyását a következő egyenlet szemlélteti:



A vizsgálandó katalázoldaton kívül szükségünk van kb. 1%-os hidrogénhyperoxidoldatra és 1/10 normál káliumpermanganátoldatra, továbbá körülbelül 10%-os kénsavra.

A vizsgálandó katalázoldatból 5—10 cm³-t 20 cm³ hidrogénszuperoxidoldattal elegyítünk és 2 óráig szobahőmérsékleten pihentetjük. Ezután a folyadékot 10 cm³ kénsavval megsavanyítjuk, 30—40 cm³ vízzel főlhigítjuk és addig csepegtetünk hozzá káliumpermanganátot, amíg a folyadék maradandóan világos rózsaszínű lesz. Az ellenőrző kísérletet éppen úgy végezzük, csakhogy felfőzött katalázoldattal. 10 cm³ káliumpermanganátoldatnak 0.017 g. hidrogénszuperoxid felel meg; ennek alapján az elbontott szuperoxid mennyiségét könnyen megállapíthatjuk.

A *jodométriás módszer* kivitele úgy történik, hogy a vizsgálandó oldatból 4—5 cm³-t 20 cm³ hidrogénhyperoxidoldattal 2 órán át szobahőmérsékleten tartunk, majd a reakciókeveréket 10 cm³ hígított kénsavval megsavanyítjuk; 10 cm³ jódkáliumoldatot és kevés keményítőoldatot elegyítünk hozzá és 1 óra múlva a kivált jódot nátriumthioszulfáttal visszaitráljuk.

Vannak olyan módszerek is, amelyek a hidrogénhyperoxidból felszabaduló oxigéngáz térfogatát vagy nyomását mérik. Kivitelükhöz azonban különleges készülékek szükségesek; pontosabb eredményt pedig nem szolgáltatnak, mint a titrimetriás eljárások.

A kataláz tulajdonságai.

A kataláz chemiai tulajdonságairól úgyszólván semmit sem tudunk, csak az bizonyos, hogy az eddig tanulmányozott különböző eredetű katalázok tulajdonságaikban is különbözők. Euler¹ a növényekben, a vérben és a zsírban előforduló katalázt különbözőnek találta. Loew két hidrogénhyperoxidot bontó enzimét tételez föl, amelyek közül a β -kataláz vízben oldható, az α -kataláz pedig vízben oldhatatlan volna. Ezt a fel fogást osztja J o r n s² is, még pedig a baktériumkatalázok tanulmányozása során tett észleletei alapján. A kataláz csak rendkívül csekély hidrogénhyperoxidkoncentráció mellett hódol a tömeghatás törvényének. A vérkataláz a cellulózehártyán nem hatol keresztül; a bél falán ellenben könnyen átmegy. Ha olyan kémhatású oldatát, amely methiloránzsavval

¹ Euler: Hofmeisters Beiträge VII., 1 (1906) 1.

² J o r n s: Archiv für Hygiene, 67, 134 (1908) 1.

szemben semleges, porcellánszűrőn megszűrünk, az oldat hatását úgyszólván teljesen elveszti, míg phenolphtaleinnel szemben semleges környezetben csaknem veszteség nélkül szűrhető. Kovaföld, kolloidproteinek és normális ólomfoszfát a kataláz oldatából könnyen adszorbeálja. A kataláz már $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on is hat; 10 és $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ között hatása úgyszólván egyforma, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ körül gyengül, $68\text{--}72\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on pedig tönkremegy. Liebermann szerint a malátakataláz hatása már $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ körül is gyengül, míg a zsírszövetekben előforduló enzim még $60\text{--}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os hőmérsékletet is baj nélkül elvisel. Fény, különösen pedig az ibolyaszínű sugarak gyorsan megakasztják a kataláz hatását. Az ultraibolyasugarak mindenképpen károsak; a látható sugarak csak akkor, ha egyszermind oxigén is van jelen. A bengálvörös, methilénkék, dichloranthracendiszulfosavas nátrium a káros hatást elősegítik.

A savak és alkáliák a kataláz működését lassítják. A koncentráció növekedésével a mérgező hatás a koncentráció harmadik hatványa szerint növekszik. A savakkal megakasztott enzimhatás a környezet semlegesítésekor ismét visszanyeri eredeti erősségét. A káliumcyanid nyomokban is káros hatású, a cyansav, hydroxylamin, phenylhydrazin, acetonitryl erősen csökkenti a reakció sebességét. A sók hatását Battelli F., továbbá Lockemann, Thies és Wichem tanulmányozták.¹

A kataláz rendkívül hatásos enzim. Euler szerint $0\cdot006\text{ g.}$ kolloidális platina 1 literben oldva, ugyanakkora katalitikus hatást tudott kiváltani, mint az olyan katalázkészítmény, amely literenként körülbelül $0\cdot001\text{ g.}$ száraz anyagot tartalmazott.

V. Erjesztőenzimek, vagy zümázok.

Az egyszerű cukroknak, még pedig főképpen a glükóznak és a fruktóznak sajátos átalakulásait idézik elő. Eközben olyan termékek létesülnek, amelyek kutatása még nincsen befejezve. Tiszta képet csak a végeredményről alkothatunk magunknak, amely többféle lehet, aszerint, hogy a közbeneső termékek miféle további átalakuláson mehetnek keresztül. A közbeeső termékek átalakulásának egyik iránya az, amely aethylalkohol és szénsav keletkezéséhez vezet, s amely folyamat az élesztősejtekkel való erjedés alkalmával a legszembeötlőbb. Teljesen hasonló átalakulás észlelhető a magasabbrangú növények életében is, ha azokat a levegőtől elzárjuk. Nagyon valószínű, hogy még nem pontosan ellenőrizhető körülmények között az állati szervezet is alkalmas a közben-

¹ Battelli F.: Comptes rendus de la Société de Biolog., 60, 916—917 (1906) l., Lockemann G., Thies J. és Wichem H.: Zeitschrift für physiologische Chemie, 58, 390—431 (1909) l.

eső ismeretlen termékeknek ilyen irányú feldolgozására. Másik főirány, amely szintén jellegzetes végeredményhez vezet, a tejsavképződés. A tejsavas erjedést a kutatók sokáig teljesen különálló folyamatnak tekintették. Mindinkább közelednünk kell azonban ahhoz a felfogáshoz, hogy első stádiumában a tejsavas erjedés is azonos az alkoholos erjedés kezdő stádiumával, s a különbség mindössze az, hogy a tejsavas erjedéskor a közbeneső termékek másképpen változnak meg, aminek végeredménye a tejsav keletkezése. Számos baktérium alkalmas arra, hogy enzimeji segítségével tejsavat hozzon létre és az állati szervezet a levegő kizárásával a cukorból szintén tejsavat termel.

A közbeeső termékek átalakulása végül akképpen is történhetik, hogy szénsavra és vízre bomlanak el. Ezt a jelenséget látjuk pl. az állatvilág normális anyagforgalmában és a növényvilágban is, mindazokban az esetekben, amikor az életműködéseknek levegő jelenlétében való lefolyására alkalom van.

A zümázok előfordulása.

A zümáz legtipusosabb alakjában az élesztőgombákban fordul elő, miért is a legtöbb kutató ezekkel foglalkozott. Különösen a *Saccharomyces*-fajok azok, amelyek az alkoholos erjedésre alkalmasak. Ismerünk azonban olyan *Saccharomyces*-fajokat is, amelyek alkohol termelésére képtelenek, viszont ismerünk más gombákat is, minők pl. az *Allescheria Gayoni*, a *Mucor racemosus*, a *Monilia candida* stb., amelyek zümáz-tartalmúak. A baktériumok legtöbbje olyan zümázt tartalmaz, amely végeredményben a cukrot tejsavvá alakítja át.

A magasabbrangú növények is tartalmaznak zümázt. Különösen *Stoklasa* és tanítványai érdeme, hogy ezt a kérdést tüzetesen megvilágították. Sikerült nekik olyan száraz készítményeket, továbbá olyan sejtnedveket termelni, amelyek sterilis körülmények között a cukoroldatokat alkoholos erjedésre bírták. Az állatvilágban is vannak zümázok; ezekről azonban sokkal kevesebbet tudunk, mint a növényvilág zümázairól. Az állati sejtekben pl. jelen van egy enzim, amely a cukrot megtámadja és amelyet *glykolytos enzimnek* neveznek. Megfigyelték az állati szervezetben az alkohol jelenlétét is; de a képződés körülményei még ismeretlenek. A tejsav jelenléte azonban mindenütt kimutatható, ahol az életjelenségek a levegő kizárásával folynak le. A tejsav cukorból való képződését élő sejtek hatására kísérletileg is sikerült beigazolni.

A zümáz előállítás.

A kutatók legtöbbet az élesztősejtekben jelenlévő zümázzal foglalkoztak, miért a módszerek is ez irányban alakultak ki a legjobban. Ez okból itt szintén az élesztőben jelenlévő zümáz előállítását ismertetjük.

Az élesztő nedvének előállítása sajtolás útján.¹

Hatásos zümáztartalmú nedv termelése céljából a sörélesztőt először is meg kell mosnunk, azután vízmentessé tennünk. Ha ez megtörtént, következik az élesztőnek kvarczhomokkal és kovafölddel való keverése, majd szétdörzsölése, végül pedig a tésztaszerű anyag kisajtolása. Az eldörzsölést és a kisajtolást meg kell ismételni.

Az egész művelet végrehajtásakor legfontosabb a kvarczhomokkal való eldörzsölés, aminek az a célja, hogy a sejtek fala felszakadjon és a sejtnedv kicsuroghasson. A kvarczhomokot üveggörrel nem lehet helyettesíteni, mert az üveg gyengén lúgos kémhatásánál fogva a zümáznak árt. Ekképpen azonban nyálkás, nyúlós tömeget kapunk, amelyből sajtolás útján nedvet nem igen termelhetünk, nagy nyomás alkalmazásakor pedig elszakadnak a sajtoláshoz használt szövetek. Ha ellenben a tömeghez még kovaföldet is keverünk, akkor sajátságosan plasztikussá lesz. A kovaföld finom likacsaiba a félfolyós sejttartalom beszívódik. Ha a tömeget most hatalmas nyomás hatásának tesszük ki, a kovaföldrészek szorosan egymáshoz sajtolódnak, nem marad hely a felszívott folyadék számára és a nedv kicsurran, míg a szilárd alkatrészek a kovaföldszemekhez tapadnak. A kovaföld eszerint bizonyos fokig mint szűrő szerepel. A hatásos élesztő-sejtnedv termelése céljából nem föltétlenül szükséges hidraulikus sajtot és magas nyomást alkalmazni. Ha azonban bőséges termelést akarunk elérni olyan nedvből, amelyben lehetőleg sok zümáz legyen, akkor föltétlenül hatalmas sajtóval kell dolgoznunk.

Nézzük most közelebbről, hogy az egész műveletet hogyan végezhettük helyesen?

A friss sörélesztőt először is mossuk. Az élesztő szőrből font szitára kerül, amelynek nyílásain keresztül vízzel való folytonos iszapolás útján áthajtjuk. Az élesztőt tartalmazó lecsurgó vizet magas, körülbelül 25 literes edényekben gyűjtjük össze. Mikor az élesztő leülepedett, a föltte álló vízréteget szívócsővel eltávolítjuk, majd az egész mosást két-háromszor megismételjük, amíg a mosóvíz szintelen és átlátszó marad. Végül az élesztőt szűrőkeretre kifeszített csalánszövetre öntjük és így összegyűjtjük. Ha 2 kg. élesztőből indulunk ki, az egész mosás művelete kb. 1 órát vesz igénybe. A mosást olyképpen is végezhetjük, hogy a szőrszítán történt áthajtás után a nagy, 25 literes edény fenekére leérő gummicsovön a vízvezeték vizét meglehetősen erővel hagyjuk kifolyni. A mozgó víz ekkor az edény alján levő élesztőt iszapolja; kioldja a tisztatlanságokat, amelyek a csordultig telt edény peremén keresztül elfolynak. Ugyanekkor eltávoznak a könnyebb, holt sejtek és az esetleg jelen volt vadélesztők is, amelyek a nemes élesztőnél rendesen apróbbak.

¹ Buchner-Hahn: Die Zymasegärung, 1903.

A megmosott élesztőt víztől lehetőleg mentesítenünk kell. Ezt úgy érjük el, hogy a szűrőkeretre feszített csalánszövetet összehajtogatjuk, erős sajtolásra alkalmas szövetbe csavarjuk és a hidraulikus sajtóban kisajtoljuk, úgy, hogy a tömeget 5 percen át 50 atmoszféra nyomásnak vetjük alá. Ilyenkor körülbelül 70% vizet tartalmazó sejtötmeget kapunk.

Az így termelt élesztőt most nagy porcelláncsészébe helyezzük és olyan kvarczhomokot keverünk hozzá, amelyet előbb megszitáltunk. A szitának minden négyzetcentiméterén 200 nyílás legyen. Ezután még tiszta kovaföldet is teszünk a keverékhez; legjobb, ha 1 kg. kisajtott élesztőre 1 kg. kvarczhomokot és 2—300 g. kovaföldet alkalmazunk. Az elkeverést legcélszerűbben kézzel végezzük, majd pedig a tömeget négyzetcentiméterenként 9 nyílással bíró szitán hajtjuk keresztül. Ekkor teljesen száraz, csaknem fehér porhoz jutunk, amelyet 40 cm. átmérős porcellánmozsárban 300—400 g.-os részletekben dörzsölünk el. Hogy a mozsár helyéből el ne mozdulhasson, fába burkoljuk és az asztalhoz erősítjük, vagy pedig az asztalba mélyeszítjük. A hozzávaló porcellánkeverőre $1\frac{1}{3}$ méteres vasnyél van erősítve. A keverő súlya több, mint 8 kg. A súlyos keverő felső végén rugóra, ez pedig a falhoz van erősítve. A nehéz keverővel ily módon igen könnyen, minden nagyobb testi megerőltetés nélkül dolgozhatunk. Amikor az eldörzsölést megkezdjük, a por színe nemsokára megváltozik: szürkésbarna lesz; a tömeg kezd összetapadni és nedves lesz. Az éles kvarczzemek az élesztősejtek falát felhasítják és belőlük a félfolyós tartalom kifolyik. A folyadékot a kovaföld azonnal felszívja. Így keletkezik a plasztikus, nem ragacos, téztszerű tömeg, amely a kisajtolásra már alkalmas. A tömeget addig kell dörzsölni, amíg a mozsár falától önként elválik. 300—400 g.-os adagok esetében az egész művelet $2\frac{1}{2}$ —3 perczig tart. Hogy a sejtek szétroncsolása tökéletes-e, azt célszerű mikroszkóp alatt is ellenőrizni.

Ezután következik a tulajdonképpeni sajtolás. Evégből 1 kg. élesztőnek megfelelő eldörzsölt tömeget erős gyapotszövetbe csavarunk. Legjobb e célra olyan vízmentes vitorlavásznat használni, amelyet sátrak készítésére szoktak alkalmazni. (A vászon ne legyen páczolva!) A vásznat használat előtt hideg vízbe áztatjuk, majd a víz fölöslegét 50 atmoszféra nyomással eltávolítjuk. Ilyenkor a 60×75 cm.-es vászonban körülbelül 35—40 g. víz marad.

Ami a sajtot illeti, legjobban megfelel a hidraulikus kézisajtó, amilyent például a mannheimi Brück és Hübner-féle gépgyár szállít. A sajton függőleges csavarral a vitorlavászonba csavart anyagot előbb megszorítjuk, majd a gliczerinnel vagy ricinusolajjal töltött tartályra az oldalt elhelyezett csavarral alulról gyakorolunk nyomást. A nyomást igen lassan növeljük, nehogy a vászon kiszakadjon; 50—50 atmoszférával meggyünk folyton följebb és 300 atmoszféránál megállunk. 1 kg. élesztő

ilyen körülmények között 320—460 cm³ sejtnedvet szolgáltat. Hogy a termelést növeljük, a tömeget a mozsárban ismét eldörzsöljük, majd újból kisajtoljuk. Az összes termelés így 450—500 cm³ lesz. A folyadékot a sajtóból egyenesen redős szűrőre csurgatjuk, arról pedig jeges vízbe helyezett edénybe folytatjuk. Az egész művelet, az élesztő eldörzsölésétől számítva, 1 kg. élesztő feldolgozása esetén kellő gyakorlat mellett 3 órát vesz igénybe.

Acetonos élesztőkészítmény előállítás.

Friss, kimosott sörélesztőt 50—100 atmoszféra nyomáson kisajtolunk. Az élesztőből 500 g.-ot kézzel nagyjából elaprózunk és olyan szitára helyezük, amelynek minden négyzetcentiméterén 100 nyílás van, majd pedig lapos csészébe mártjuk, amelyben 3 liter aceton van. Most a szitát az acetonban föl- és alámozgatva, kefe segítségével az élesztőt a szita nyílásain áthajtjuk. Az élesztőt gyakori fölkeverés közben még 10 perczig hagyjuk az acetonban. Ekkor rövid ideig tartó leüleptetés után az aceton legnagyobb részét leöntjük és az élesztőt porcellánszűrőn keményített szűrőpapiroson keresztül leszívátjuk és lapos üveg dugóval jól lenyomkodjuk. A felaprózott élesztőtömeget porcelláncsészében 1 liter acetonnal újból leöntjük, két perczig elkeverjük, majd a tömeget ismét leszívjuk és az üveg dugóval jól kisajtoljuk. A leszívott élesztőt ismét felaprózzuk és kisebb csészében 250 cm³ aetherrel leöntjük, majd a tömeget 3 perczig az aetherrel jól átdolgozzuk, azután az élesztőt a szivattyúnál porcellánszűrőn szárazra szívjuk, a tömeget felaprózzuk és lehetőleg vékony rétegben szűrőpapirosra teregetjük szét. $\frac{1}{2}$ —1 óra múlva az aether legnagyobb része elillant; ekkor a készítményt további szárítás végett 45 C⁰-ra melegített szárítószekrénybe tesszük. 24 óra múlva az élesztőkészítmény kellőképpen száraz. A terméket nagyban is előállítják és *zymin* néven hozzák forgalomba.

A készítmény átlagban a saját súlyával egyenlő mennyiségű cukrot képes elerjeszteni. Hatásosságát sokáig megtartja.

Zümáztartalmú folyadék készítése kioldás útján.¹

A Buchner-féle módszer szerint hatásos sejtnedvet termelhetünk, azonban meglehetősen költséges berendezés szükséges hozzá. Lebedewnek a következőkben ismertetett eljárása sokkal előnyösebb, mert kiviteléhez úgyszólván semmiféle költséges berendezés sem szükséges és még hatásosabb zümáztartalmú folyadékot szolgáltat.

Az élesztő mosása és előkészítése ennél az eljárásnál is fontos. Sörgyártól egy dézsányi egészen friss élesztőt szerzünk be; körülbelül 50 literes tartóba öntjük és a vízvezetéki csapról lassan vizet folytatunk

¹ Lebedew A.: Zeitschrift für physiologische Chemie, 73, 447 (1911) 1.

az élesztőt tartalmazó edénybe. A szennyezések az edény száján át távoznak el. E kimosást elősegítendő, az élesztőt időnként bottal jól fölkeverjük. A mosást addig folytatjuk, amíg a víz szintelenül és átlátszóan csurog le, majd az élesztőt hagyjuk leülepedni. Ha aznap már nincs időnk az élesztőt kisajtolni, az élesztőt egy éjjelen keresztül hagyhatjuk víz alatt pihenni; így gyakran még hatásosabb zümáztartalmú folyadékot kaphatunk. Ha a helyiség fűtött, akkor a vizet egész éjjel csurgatjuk a tartóba; nyáron célszerűbb nagy jégdarabot helyezni az edénybe.

Ha az élesztő jól leülepedett, a vizet szívócsővel lehúzzuk, azután nagy vas-, porcellán- vagy agyagedény szájára 5 mm.-es nyílásokkal ellátott szitát helyezünk, vékony szűrővászonnal lefedjük és az élesztőt ráöntjük. Ha a folyadék lecsöpögött, a szűrővászon négy végét összefogjuk, zsineggel jól lekötjük és erős vitorlavászonba csavarva, kézisajtón kisajtoljuk, addig, amíg a tömeg annyira vízmentes lesz, hogy 5 mm.-es nyílásokkal bíró szitán áthajtható. A kapott terméket deszkára helyezett ítatópapírosra vékony rétegben kitergetjük és 25—30 C°-on megszáritjuk. A száritáshoz 2 nap szükséges. Magasabb hőmérséklet (pl. 35 C°) használata esetén megtörténhetik, hogy a termelt folyadék hatásossága csökkenik.

Ha az élesztő kimosására és szállítására szolgáló időt és munkát meg akarjuk takarítani, L e b e d e w előírása alapján a most leirt módon készült kitünő minőségű száraz élesztőkészítményt S c h r o d e r gyárában (München, Landwehrstrasse 45) is beszerezhetünk.

A száraz élesztőből 50 g.-ot 150 cm³ vízzel leöntünk, porcellán- vagy üvegcsészében jól elkeverjük, addig, amíg a tömeg teljesen egyenletesen eloszlik, majd 2 órára 35 C°-os termosztátba helyezzük, vagy pedig 6 órán át 25 C°-on tartjuk. Ezután a tömeget redős szűrőre öntjük. A termelt szűrlet cukor hozzáadására nemsokára élénk erjedésnek indul. Nyári időben tanácsos a szűrletet jeges vízzel hűteni. Az első 15—20 perc alatt 25—30 cm³ folyadékot kaphatunk, 12 óra alatt pedig 70—80 cm³ folyadék gyülik össze. Ha nagyobb mennyiségű zümázoldatot akarunk készíteni, akkor is célszerű 50 g.-os adagokból kiindulni, mert a szűrést könnyebben végezhetjük.

Az így készített folyadék legtöbbször hatásosabb, mint a B u c h n e r-H a h n-féle eljárással termelt sejtnedv. 20 cm³ folyadék erjedés alkalmával a jelenlévő cukorból rendszeren 2·6—2·8 g. széndioxidot szolgáltat, míg a B u c h n e r-féle eljárással termelt leghatásosabb nedv 20 cm³-e legföljebb 2·3 g. széndioxidot fejleszt a cukorból.

A zümáz jelenlétének kimutatása és hatásfokának megállapítása.

Legtöbbször az alkoholos erjedést kiváltó zümázról van szó. Ilyenkor a kérdéses enzimet szőlőcukor-, vagy nádcukoroldattal elegyítjük és megfigyeljük, hogy a cukor bizonyos idő múlva kevesebb lett-e, egy-

idejűleg pedig a reakciókeverékben alkohol és széndioxid jelennek-e meg? A zümáz hatásosságának megállapítása céljából meghatározhatjuk vagy a keletkezett aethylalkohol, vagy pedig a fejlődött széndioxid mennyiségét. Legtöbbször a széndioxid mennyiségét szokás meghatározni, még pedig úgy, amint azt Buchner leírta.

E célból a kérdéses zümázoldatot, pl. 20 cm^3 élesztőnedvet 0.2 cm^3 toluóllal elegyítjük, majd 8 gr. finomra porított nádcukrot adagolunk a keverékhez és körülbelül 1 percz alatt föloldjuk. Ezután a körülbelül 100 cm^3 -es lombikot ú. n. Meissl-féle zárral látjuk el, majd pedig az egész készülék súlyát meghatározzuk. Ez a zár egyszerű gázmosó szerkezet, amelyben $1\text{--}2\text{ cm}^3$ tömény kénsav van és arra való, hogy az eltávozó széndioxid nedvességet ne ragadjon magával. A mosó be van csiszolva a lombik nyakába és végén Bunsen-féle szelep van, amely a gáznak kifelé való áramlását megengedi, de a külső levegő betódulásának ellenszegül. Lemérés után állandóan 22 C^0 -on tartjuk a készüléket. $1\text{--}2$, illetőleg 3 nap múlva a készüléket ismét lemérjük. A súlykülönbséget a felszabadult széndioxid mennyiségét adja.

A zümáz tulajdonságai és működésének körülményei.

A zümáz chemiai természetéről épp olyan keveset tudunk, mint a többi enzimekéről. Jellegzetes a zümázra, hogy meglehetősen érzékeny. Hatásosságát oldott állapotban néhány nap alatt elveszíti, aminek oka főképpen az, hogy a sejtnedvben mindig jelenlevő endotryptáz tönkreteszi a zümázt. Az utóbbi folyamatot a tömény nádcukoroldat megakadályozza, úgy, hogy a zümáz hosszabb ideig hatásos marad. A zümáz másképpen működik tömény és másképpen híg oldatokban. A legjobb eredményeket $30\text{--}40\%$ -os nádcukor jelenlétében érhetjük el. Hígabb cukoroldatokban az erjedés ugyan hamarabb indul meg, de az enzim hamarabb is megy tönkre. A legkedvezőbb hőmérséklet a zümáz működésére $28\text{--}30\text{ C}^0$, az alkohol és széndioxid maximális értékét, bár lassabban, $12\text{--}14\text{ C}^0$ -on éri el. Már $40\text{--}50\text{ C}^0$ -on tönkremegy a zümáz, de száraz meleggel szemben még 85 C^0 -on is ellentálló.

A különféle sók hatásai közül figyelemre méltó a foszfátoknak reakciót gyorsító tulajdonsága; a nitrátok, főképpen pedig a mangán-nitrát jelenléte kedvező.

A legfeltűnőbb jelenség azonban, ha a különböző anyagoknak a zümáz hatására gyakorolt befolyását tanulmányozzuk, az, hogy az élesztő-sejteknek forró vízzel készült kivonata, amely önmagában semmiféle hatást sem képes a cukorra kifejteni, a zümáznak hatásosságát rendkívüli módon tudja fokozni. Ezt az anyagot, amely a főzést állja, *koenzim*-nek, vagy *kofermentum*-nak nevezik. A koenzimet a zümázból könnyű szerrel elkülöníthetjük, még pedig zselatinhártyán való keresztül-

szűrés útján. Ilyenkor a koenzim áthatol a szűrőn, míg a zümáz a szűrőn visszamarad. Ha a szűrést helyesen végeztük, két folyadékot kapunk, amelyek közül egymagában egyik sem alkalmas arra, hogy a cukoroldatban alkoholos erjedést idézzon elő, ellenben a két folyadékot összeöntve, a cukoroldatban élénk erjedést idézhetünk elő. Ebből láthatjuk, hogy a zümáz működése csak a koenzim jelenlétében lehetséges. Erjedés közben a koenzim lassan elfogy; ilyenkor az erjedés lassul, majd megszűnik. Ha most élesztőfőzetet, koenzimet keverünk a reakciókeverékhez, ismét megindul az élénk erjedés.

Ha koenzimoldatot akarunk készíteni, akkor az élesztőnek frissen kisajtott nedvét vízfürdőn melegítjük, amíg a proteinek benne meg-alvadnak, majd pedig a tömeget megsűrjük. A szűrletet hirtelen még egyszer felfőzzük és a kicsapódott proteinektől megsűrjük. Ezután a szűrletet vízfürdőn híg szirupsűrűségűre párologtatjuk. A kapott anyag a koenzimet nagy mennyiségben tartalmazza. Úgy is eljárhatunk, hogy a frissen kisajtott élesztőt vízfürdőn melegítjük, a tömeget centrifugáljuk és a folyadékot használjuk koenzimoldatképpen.

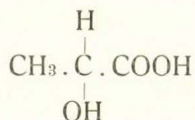
Az a jelenség, hogy a koenzim állja a főzést, a kutatókban azt a gondolatot érlelte meg, hogy a koenzim anorganikus anyag, amelynek jelenléte aktiválja a zümázt. Tekintve, hogy a tapasztalat azt mutatta, hogy foszfátok hozzáadására az alkoholos erjedés megélénkül, továbbá, hogy foszfát hozzáadása után a reakciókeverékből foszfortartalmú oszazonokat sikerült elkülöníteni: közelfekvő volt arra gondolni, hogy talán a koenzimben egyszerűen foszfáttartalmú organikus anyagokat, talán cukrokna foszforsav-észtereit kell látnunk, amelyek a zümázt hatásossá teszik és működését élénkítik. Több kutató foglalkozott e kérdés tisztázásával, különösen H a r d e n és Y o u n g, továbbá L e b e d e w. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a koenzimek szerepét a foszfátokéval nem azonosíthatjuk. A foszfátok szerepüket ugyanis csakis koenzim jelenlétében tudják kifejteni. Maga a foszfáthatás abban áll, hogy a cukor a jelenlévő foszfáttal nem állandó közbeeső termékeket létesít, amelyeket oszazon-alakban el is lehet különíteni. Csakis ezek a cukorfoszforsav-észterek alkalmasak arra, hogy zümáz hatására tovább átalakuljanak, miért is, ha az erjedő folyadékhoz mesterséges foszfátot keverünk, abban megnöveljük az átalakítható alapanyagok mennyiségét. Az átalakulás folyamán a foszforsavészterek hidrolízisen mennek át, a felszabaduló foszforsav pedig újabb cukormennyiségekkel létesít megint foszforsavésztereket.

A zümáz nem támad meg minden cukrot, amelyet ismerünk. Először is a diszacharideket és triszacharideket közvetlenül nem alakíthatjuk át alkohollá és széndioxidá. Hogy tapasztalat szerint pl. a nádcukor, meg a máltóz elerjednek, annak magyarázata az, hogy az élesztőben a zümáz mellett invertáz, illetőleg máltóz van jelen. Az erjesztőfolyamatot

eszerint mindig megelőzi a poliszaccharideknek monoszaccharidekké való átalakulása. A monoszaccharidek sem mind képesek erjedésre. A kísérlet azt igazolja, hogy tulajdonképpen csakis a hexózok között találunk elerjeszthető cukrokat. Egy ideig a triózokat és a nonózokat is alkalmasaknak találták az erjedésre. Újabb vizsgálatok alapján e két utóbbi adat nem bizonyult teljesen megbízhatónak. Eszerint az alkoholos erjedés úgyszólván kizárólag a hexózok kiváltsága. Az aldohexózok közül elerjeszthetők a *d*-glükóz, a *d*-mannóz és a *d*-galaktóz; ellenben az *l*-glükóz, *l*-mannóz és *l*-galaktóz nem. A három cukor között kiemelhetjük a *d*-galaktóz viselkedését, amely csakis olyan élesztővel erjeszthető el, mely a galaktóz átalakításához lassan alkalmazkodik. A ketohalózok között erjedésre alkalmas a *d*-fruktóz.

Ha az erjedést nem zümázzal, hanem élő élesztősejtekkel végezzük, a legtisztább kulturák használata esetén is melléktermékek jelennek meg az aethylalkohol és a széndioxid mellett. Ezek között jelentősebb a gliczerin, a borostyánkősav és a magasabbrendű alkoholok föllépése. Ehrlich F. vizsgálatai alapján tudjuk, hogy a gliczerin kivételével ezek a termékek nem a cukorból keletkeznek, hanem az élesztő proteinjeinek enzimés hidrolizise alkalmával létesült aminosavakból. (Bővebben l. 187 l.)

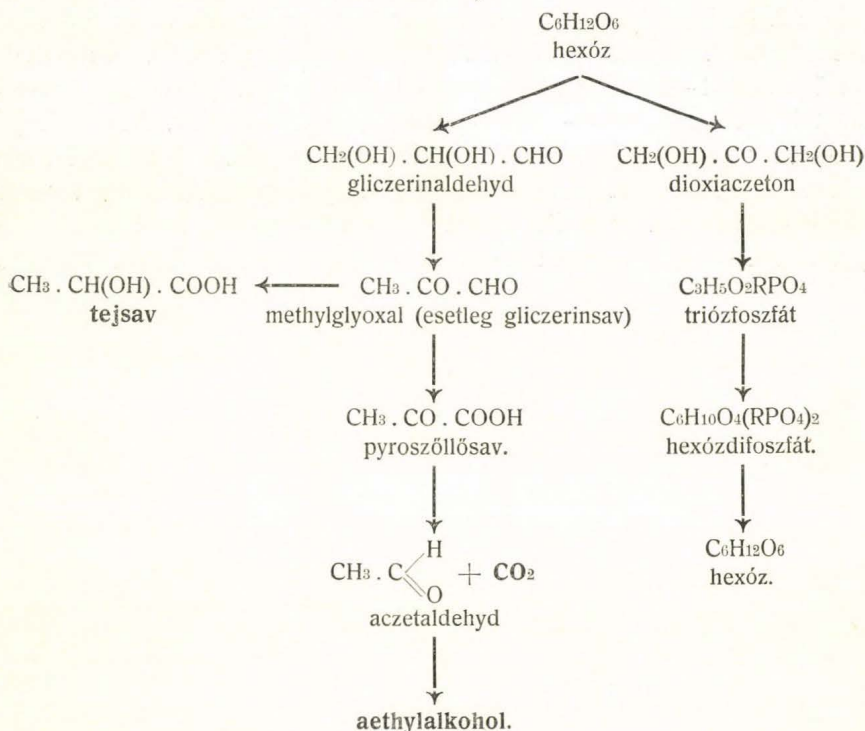
A tejsavas erjedéskor mindig α -tejsav:



létesül. A keletkezett termék konfigurációja azonban az erjesztést előidéző szervezet szerint változhatik. Leggyakoribb az inaktív *d*, *l*-tejsav; különösen az állati testben, az izmok szövetében létesül a *d*-tejsav. Az a tapasztalat, hogy az enzim hatására a nádcukorból éppen úgy, mint a máltózból kizárólag *d*, *l*-tejsav keletkezik, arra enged következtetni, hogy az erjedéskor létesülő tejsav mindig a *d*, *l*-alakulat és az aktív alakok föllépését a természetben azzal magyarázhatjuk, hogy a reakciókeverékben egyúttal olyan szervezetek vannak jelen, amelyek a *d*, *l*-tejsavnak egyik komponensét tovább bontják.

Azokról a chemiai folyamatokról, amelyek a cukortól az aethylalkoholig, illetőleg széndioxidig és a tejsavig elvezetnek, igen sokféle elméletet dolgoztak ki a kutatók, anélkül azonban, hogy a kérdést a mai napig tisztázniok sikerült volna. Mindössze néhány tény van, amely az eddigi kutatások alapján kiforrott. Legvalószínűbb az a föltevés, hogy a hexóz először is két triózmolekulára bomlik. A létesült trióz egyrészt gliczerinaldehyd, másrészt dioxiaceton. A gliczerinaldehydből azután gliczerinsav, vagy methylglyoxal, később azonban minden bizonyynyal pyroszöllősav képződik. A pyroszöllősav azután, mint azt a carboxiláznál

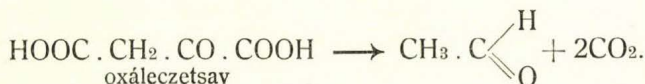
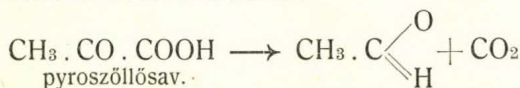
látjuk, acetaldehydet és széndioxidot létesít, az acetaldehydből pedig redukció útján aethylalkohol lesz. Eszerint a glicerináldehydből az út meglehetősen valószínű a végtermékekig. Ami már most a létesült dioxiacetont illeti, az a jelenlevő foszfáttal triózfoszfátot ad, a triózfoszfát hexózdifoszfáttá tömörül, abból ismét hexóz lesz; eszerint a foszfát ismét új alapanyagot létesít az erjedés számára. A legelfogadhatóbb magyarázatot eszerint a következő vázlat mutatja:



A karboxiláz.

Széndioxid létesítése közben számos alifás és aromás ketonsavat elerjeszt. Előfordul a friss és a megszáritott élesztőben és az élesztőnedvben.

Kimutatását legalkalmasabban pyroszöllósavval vagy oxálecetsavval végezhetjük. Mindkét ketonsav a karboxiláz hatására acetaldehyd és széndioxid létesítése közben bomlik el:



A kérdéses kivonatot annyi pyroszöllősavoldattal keverjük, hogy a reakciókeverék koncentrációja 1%-nál ne legyen nagyobb. A széndioxid fejlődése 37 C°-on nemsokára megindul, egyszersmind pedig az acetaldehyd is megjelenik. Ebben az esetben nem elégedhetünk meg a széndioxid kimutatásával, hanem az acetaldehyd jelenlétét is be kell igazolnunk. Mivel az acetaldehyd 21 C°-on forr, az erjesztőedényt hűtővel kapcsoljuk össze, amely a költőszekrény falán keresztül a szabadba nyúlik; a hűtőt erőlyesen hűtjük és így összegyűjthetjük az ádesztilláló acetaldehydet. Az acetaldehyd minőleges kimutatása céljából a párlatnak 1 cm³-ét 1—2 cm³ híg nitoprussidnátriumoldattal, majd pedig 1—2 csepp 5%-os diallylamin- vagy piperidinoldattal elegyítjük. Acetaldehyd jelenlétében azonnal sötétkék színeződés mutatkozik. Mennyiségi meghatározás céljából a párlatot eczetsavas p-nitrophenylhydrazin vizes oldatával elegyítjük és 1 óra mulva a kivált acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazint G o o c h-tégelyben leszűrjük és 90 C°-on megszáritva, lemérjük.

BETŰRENDES TÁRGYMUTATÓ.

Betűrendes tárgymutató.

- Acetaldehyd** 161
 β -acetobrom-glükóz 79
 acetonos élesztőkészítmény 334
 achroodextrin I. 127
 achroodextrinek 127
 achroodextrin III. 129
 adenin 222
 agmatin 189
 akceptor 296
 d-alanin 160, 192
 alanyl-a-glin 260
 d-alanylglycyl-glycin 21
 alanyl-glin 260
 d-alanylglycin 20
 alanyl-leucyl-glycin 261
 alanyl-glycyl-glycin 261
 d-alanyl-glycin készítése 257
 alanyl-leucin 260, 261
 albuminok 211
 albuminoidok 217
 albuminoidok 208
 albuminok 206
 albumózok 232
 aldehydáz 303
 alkoholoxidáz 297
 amiláz 114
 amiláz előfordulása 121
 amiláz tulajdonságai 136
 amilopektin 118
 amilóz 118
 l- α -amino borostyánkősav 169
 amino butyryl-glycin 261
 ϵ -aminocapronsav 189
 aminoecetsav 161
 d- α -aminoglutársav 169
 α -aminohydrofahéjsav 178
 d- α -aminoisovaleriánsav 162
 l- α -amino- β -oxypropionsav 167
 d- α -amino- β -methyl- β -aethyl-propion-
 sav 165
 d- α -aminopropionsav 160
 α -aminopropionsavnitril 161
 aminosavak 160
 aminosavak elválasztása 191
 δ -aminovaleriánsav
 amygdaláz 142
 amygdalin 148
 amydonitrilglükozid 148
 amylocellulóz 115
 amyloextrin 126
 Amylomices Rouxii 121
 amylopektin 115
 amylóz 115
 amylsalicyláz 61
 amyllum 114
 amorphophallus Konjaku 81
 antienzim 31
 antifermentum 31
 antiinulináz 140
 l-arabinóz 72
 l-arabinóz-diphenylhydrazon 73
 l-arabinóz-phenyloszazon 74
 l-arabonsav 73
 arbutin 148, 151
 argináz 271
 arginin 189, 271
 d-arginin 173
 d-argininchlorhydrát 172
 d-argininezüstös 173
 argininmeghatározás 201
 d-arginin methylaetherchlorhydrát 173
 d-argininnitrát 172
 d-argininphosphorwolframat 173
 d-argininpikrát 173
 d-argininpikrolonát 173
 aromás aminosavak 178
 l-asparaginsav 169, 193
 aspergillus niger 54
 ancubin 148
 autolites enzimek 266
 állandó dextrin 130
Bacillus prodigiosus 54
 bacillus pyocyaneus 54
 bacterium lactis aerogenes 107
 bakankozin 148
 baktériumproteázok 265
 bázisos d-argininezüstnitrát 173
 bázisos d-argininréznitrát 173
 benzaldehyd 297
 benzaldehydcyanhydrin 145
 benzaldehydcyanhydrin 143
 benzoessav 297

- benzolsulfo-d-isoleucin 166
 benzolsulfo-l-leucin 164
 benzoyl-l-asparaginsav 169
 benzoyl-d-glutaminsav 170
 benzoyl-d-isoleucin 166
 l-benzoyl-leucin 164
 benzoyl-l-tyrosin 179
 benzylalkohol 297
 benzylphenylhydrazin 63
 betain 189
 betuláz 154
 biochemiai próba emulszinnal 150
 biuretreakció 158
 boletus elegans 54
 borjgyomorkivonat készítése 280
 borkósav 12
 p-bromphenylhydrazin 63
 bromelin 265
Cadaverin 189
 calciumfruktozát 85
 Cannizzaro-féle reakció 297
 carbamid 172, 271
 carbohidrátok 62
 caricin 265
 celláz 113
 cellobiáz 113
 cellobioszon 90
 czelebióz 90
 cellobiózphenyloszazon 90
 cellóz 90
 celluláz 141
 chondroitinkénsav 210
 chymáz 273
 chymosin 273
 clavaria flava 54
 conchiolin 220
 coniferin 148, 153
 cyanmethämoglobin 231
 cystein 175
 l-cystein 177
 cysteinsav 175
 cystin 189
 l-cystin 175
 l-cystindimethylaetherchlorhydrát 160
 cystin elkülönítése 200
 cytáz 141
 cytosin 222
 cukrok hidrazonjai 63
 cukrok meghatározása polarimétriás
 módszerrel 69
 cukrok oszazonjai 63
 cukrok titrimétriás meghatározása
 Fehling-féle oldattal 65
Dialanyl-cystin 261
 dializátor állandó vízkeringésre 16
 dializátor halhólyagból 16
 dializistömlő pergamentpapírból 17
 l- α -diamino- β -dithio-dilactylsav 175
 diamino-monocarbonsavak 170
 diamino-polyoxy-monocarbonsavak 174
 diaminoacetondichlorhydrát 184
 α - ϵ -diamino-valeriansav 174
 diasztáz 114
 diasztáz hatásának termékei 123
 diasztáz mennyiségi meghatározása 134
 diasztázoldat készítése 151
 diasztáz, tisztított készítmény előállítása 121
 dibenzoyl-d-arginin 173
 l-dibenzoyl-cystin 177
 dibenzoyl-d-lysin 171
 dibenzoyl-d-ornithin 174
 dibenzoyl-l-tyrosin 180
 dimethylprolin 189
 dioxiaceton 339
 diphenylhydrazin 63
 disaccharidok 86
 dohánylevélkataláz 327
 Egyszerű amidázok 271
 egyszerű proteinek 206, 211
 elastin 218
 elszappanosítási szám 56
 emulzin 142
 δ -emulzin 145
 σ -emulzin 145
 emulzin készítése 149
 endoenzimek 15
 enterokináz 30, 251, 263
 enzimek adszorpciója 46
 enzim : a fogalom meghatározása 8
 enzim : a fogalom történeti fejlődése 1
 enzimek általános előállítási módjai 14
 enzimek általános tulajdonságai 7
 enzimek beosztása 53
 enzimek : kémiai szerek hatása az
 enzimekre 29
 enzimek : elektromos áramok hatása az
 enzimekre 29
 enzimek elektromos átvitele 49
 enzimek elnevezése 53
 enzimek : fénysugarak hatása az enzi-
 mekre 29
 enzimhatás feltételei 18
 enzimhatás kimutatása 18
 enzimhatás követése 18
 enzimek különleges működése 11
 enzimes reakciók, hőmérséklet hatása 25
 enzimes szintézisek 50
 enzimolitos redukciótényező 148
 enyv 217
 erepszin 269
 erepszin előállítása 270
 erepszin kimutatása 270
 erepszin sajátosságai 270
 ereptáz 269
 erjedés 1
 erjedés : Buchner felfedezése 5
 erjedés : Liebig magyarázata 3
 erjedés : Pasteur magyarázata 3
 erjesztőenzimek 330
 erythrodextrin I 127
 erythrodextrin II α 127
 erythrodextrin II β 127
 erythrodextrinek 126
 eukazein 221
 élesztőmaltáz 104
 élesztő nedvének előállítása 332

- étert bontó enzimek 54
Fenolázkészítmények előállítása 310
 fenolázok kimutatása 311
 fenolázok 309
 fenolázok meghatározása 310
 fenolázok sajátosságai 312
 fertőtlenítő szerek 18
 Fuld- és Levison-féle edesztin-módszer 244
 fibrin 214
 fibrinenzim 284
 fibrinenzim mennyileges meghatározása 291
 fibrinogén 214
 fibrinogén mennyileges meghatározása 214
 fibrinogéntartalmú folyadékok elő-
 állítása 214
 fibringlobulin 215
 fibrinpróba 240
 d'-fruktóz 13
 d'-fruktóz 84
 d-galaktonsav 83
 d-galaktóz 13
 d-galaktóz 82
Galaktozido-glükóz 95
 galaktóz- α -methyl-phenylhydrazon 84
 galaktóz-phenyloszazon 84
 gaultherin 154
 gaultheráz 154
 gentianáz 113
 gentianóz 89
 gentiobiáz 112
 gentiobióz 89
 gentiobiózphenyloszazon 90
 gentiopikrin 148
 gliadin 215
 glicerinaldehyd 339
 globin 229
 globulinok 207, 212
 gluconasturtin 155
 d-glutaminsav 169, 192
 d-glutaminsavchlorhydrát 170
 glücin 160
 glücinanhydrid 160
 glükáz 104
 glükocholl 160, 192
 glükocholla ethylaetherchlorhydrát 160
 glükogén 119
 glükochollpikrát 160
 glükoproteidek 210
 glükoproteidek 231
 d-glükóz 13
 d-glükóz 76
 glükozamin 187
 glükóz-diphenylhydrazon 79
 glükóz- α -glükozid 51
 glükóz- β -glükozid 51
 glükozidokat bontó enzimek 142
 d-glükóz-meghatározás 78
 d-glükóz β -módosulat 76
 d-glükóz α -módosulat 76
 glükóz-phenyloszazon 79
 glycyl-alanin 261
 glycyl-glycin 261
 glycyl-leucyl-alanin 261
 glycyl-l-tyrozin 260
 glycyl-l-tyrozin előállítása 256
 gombakataláz 327
 δ -guanido- α -aminovaleriánsav 172
 guanylsav 227
 guanáz 271
 guanin 222, 271
 gyümölcscukor 84
Hangyasavperoxidáz 321
 haematin 227
 β -haematin 228
 haematoporphyrin 229
 haemin 229
 haemochromogén 228
 haemocyanin 231
 haemoglobin 211, 227, 229
 haemopyrrol 229
 határdextrin I 127
 Heidenhain-féle lipázpróba 55
 helicin 153
 helicoproteid 232
 hemielastin 219
 heterocyclusos aminosavak 180
 hexózok 76
 hexózdifoszfát 339
 hidrolázok 54
 hidrolizáló enzimek 54
 l-histidinezistsó 186
 l-histidindichlorhydrát 186
 l-histidindipikrolonát 186
 histidin meghatározás 201
 l-histidinmonochlorhydrát 186
 l-histidinmonopikrolonát 186
 hisztonok 207, 216
 homogentizinsav 191
 hordenin 190
 hydnum repandum 54
 hidrogénionkoncentráció hatása az
 enzimhatásra 31
 hidrogénionkoncentráció meghatáro-
 zása 33
 hidrogénionkoncentráció elektrometriás
 módszerrel 33
 hidrogénionkoncentráció kolorimetriás
 módszerrel 35
 hypoxanthin 224
Ichtulin 222
 ichtylepedin 220
 indican 189
 indimulsin 154
 indol 188
 l- β -indol- α -aminopropionsav 182
 indolecetsav 188
 indolpropionsav 188
 indoxyláz 154
 induktor 296
 inozinsav 227
 inulináz 139
 inuláz 139
 invertáz 98
 invertáz előállítása 99
 invertáz előfordulása 98
 invertáz felismerése 100

- invertáz meghatározása 100
 invertáz sajátságai 100
 invertin 98
 isatáz 154
 isoamygdalin 148
 d-isoleucin 165
 d-isoleucinphenyhydantoin 167
 d-isoleucinphenylisocyanat 166
 d-isoleucinphenylisocyanatanhydrid 167
 d-isoleucinrézsó 166
 izomáltóz 93, 132
 Jacoby-féle ricinpróba 241
 jódkeményítő 116
 Karboxiláz 339
 kataforézis 49
 kataláz 326
 kataláz előállítás 327
 kataláz előfordulása 326
 kataláz hatásfokának megállapítása 328
 kataláz kimutatása 328
 kataláz tulajdonságai 329
 kázein 220
 kázein-módszer 253
 kázein tisztítása 281
 keményítő 114
 keményítőcsiriz készítése 123
 keményítő-hidrolízis termékeinek elválasztása 133
 keményítő kimutatása 116
 keményítő meghatározása 116
 keményítő retrogradáció 116
 keratin 218
 kéntartalmú aminosavak 175
 kinázok 29
 koagulázok 273
 koenzimek 29
 kollagen 217
 kolloidumtömlő készítése 108
 kreatáz 271
 kreatin 271
 kreatináz 271
 kreatinin 271
 p-krezól 188
 Laevulóz 84
 laktáz 107
 laktáz-előállítás 108
 laktobionáz 109
 laktoglükáz 107
 laktoszon 95
 laktóz 94
 laktóz-phenyloszazon 95
 laevulopoliáz 114
 leucin 12
 l-leucin 163, 193
 l-leucinrézsó 164
 leucin-l-tyrosin 261
 leucyl-alanin 261
 leucyl-glycyl-glycin 261
 leucyl-isoserin 260
 leucyl-leucin 261
 lipáz 54
 lipázkimutatás 54
 lycoperdon gemmatum 54
 lysin 189
 d-lysinchlorhydrat 171
 lysin-meghatározás 201
 d-lysin-monochlorhydrat 171
 d-lysinpikrat 171
 d-lysinpikrolonát 171
 d-lysinplatinásó 171
 lysursav 171
 Maltáz 104
 maltáz előállítás 105
 maltáz előfordulása 104
 maltáz felismerése 105
 maltáz tulajdonságai 106
 maltobióz 91
 maltodextrin 128
 β -maltodextrin 129
 γ -maltodextrin 129
 maltoglükáz 104
 maltózphenyloszazon 92
 maltoszon 92
 maltóz 91, 131
 mandulasav 145
 mandulasavnitrilglükózid 142
 d-mannóz 13, 80
 mannóz-phenylhydrazon 82
 megalvadás ideje 277, 290
 megalvasztó enzimek 273
 meleztáz 113
 meliatin 148
 melibiáz 111
 melibióz 95
 melitrióz 96
 mesoporphyrin 229
 methylarbutin 148
 α -methyl-glükózid 80
 β -methyl-glükózid 80
 methyl-glükózidok 14
 methylglyoxal 339
 methylphenylhydrazin 63
 methylxylozidok 14
 Millon-féle reakció 158
 mirozináz 154
 monobutyriáz 62
 monoamino-dicarbonsavak 169
 monoamino-monocarbonsavak 160
 monoamino-oxy-monocarbonsavak 167
 monosacelaridok 72
 morphináz 325
 mucinok 231
 mucoidok 231
 Müller- és Jochmann-féle vérsavó-módszer 253
 myosin 214
 myrozin 154
 β -Naphthalinsulfo-d-alanin 161
 β -naphthalinsulfo-l-prolin 181
 β -naphthalinsulfo-l-oxyprolin 182
 β -naphthalinsulfo-l-serin 168
 di- β -naphthalinsulfo-l-tyrosin 180
 α -naphthylisocyanat-l-asparaginsav 169
 α -naphthylisocyanat-l-cystin 177
 α -naphthylisocyanat-d-glutaminsav 170
 nádcukor 86

- nádcukor bomlása invertáz hatására 19
 l-m-nitrobenzoylprolin 181
 p-nitrobenzoyl-serin 168
 növényglobulinok 214
 nucleinsavak 222
 nucleoproteidek 209, 222
 nutróz 221
 nyálkasav 83
 Oktaacetylcellobióz 90
 oktaacetyl-laktóz 95
 oktaacetyl-maltóz 92
 oktaacetyl-nádcukor 87
 oktaacetyl-trehalóz 89
 oldható keményítő 117
 oleáz 325
 oltóenzim 273
 oltóenzim előállítás 274
 oltóenzim előfordulása 273
 oltóenzim kimutatása 275
 oltóenzim meghatározása 275
 oltóenzim működése 283
 oltóenzim tulajdonságai 282
 oltókészítmény értéke 278
 optikai módszer 19
 orcináz 325
 ornithin 172, 189, 271
 d-orinithin 174
 d-ornithinchlorhydrát 174
 d-ornithindichlorhydrát 174
 d-ornithinchloroplatinát 174
 d-ornithinpikrát 174
 ornithursav 174
 oxálecetsav 339
 oxidázok 293
 α -oxidáz 303
 oxigenázok 319
 o-oxybenzylalkohol 303
 p-oxymandulasav 188
 4 (5) oxymethylglyoxalin 185
 l-p-oxyphenyl- α -aminopropionsav 179
 p-oxyphenylaminopropionsav 188
 p-oxyphenylecetsav 188
 p-oxyphenylpropionsav 188
 l-oxyprolin 183
 oxyprolin elkülönítése 199
 l-oxyprolinrézsó 182
 p-oxytolylisothiocyant 155
 önoxidáz 325
 összetett proteinek 208
P
 Papain 265
 papayicin 265
 papayotin 265
 paralizátorok 31
 pektináz 141
 Penicilium glaucum 54
 pentaacetyl-galaktóz 84
 α -pentaacetyl-glükóz 79
 β -pentaacetyl-glükóz 79
 pentamethylendiamin 189
 pentozánok 74
 pentózok 72
 pentózok mennyiségi meghatározása 73
 pepszin 239
 pepszin-előállítás 239
 pepszin-előfordulás 238
 pepszinglutinpepton-előállítás 239
 pepszin-kimutatás 240
 pepszin mennyiségi meghatározás 240
 pepszinogén 249
 pepszin sajátosságai 245
 peptázok 266
 peptázok előfordulása 267
 peptidázok 266
 peptolites enzimek 266
 peptonok 232
 peroxydázok 313
 peroxidázok kimutatása 314
 peroxidázok meghatározása 314
 l-phenylalanin 178, 192
 phenylalanin 190
 l-phenylalaninchlorhydrat 178
 l-phenylalanin-phenylisocyanat 178
 l- β -phenyl- α -aminopropionsav 178
 phenylisocyanat-l-oxyprolin 182
 phenylisocyanat-l-tryptophan 183
 phenyl-izomaltosazon 93
 d-phenylisopropylhydantoin 163
 phosphoproteidek 208
 phykocyan 231
 phykoerythrin 231
 phytelephas macrocarpa 81
 pialyn 54
 picein 148
 plazmon 221
 polarizáló készülék 22
 populin 153
 porphyrin 229
 profermentum 30
 l-prolin 180, 192
 l-prolin-phenylisocyanat 180
 l-prolin-phenylisocyanatanhydrid 181
 l-prolinrézsó 180
 propepszin 249
 protaminok 207, 216
 prothrombin 285
 proteinek 157
 proteinek általános jellemzése 204
 proteineket bontó enzimek 157
 proteinek hydrolizistermékei 159
 proteinek megalvadása 205
 proteinek reakciói 159
 prulaurasin 148
 ptyalin 121
 purinoxidázok 305
 putrescin 189
 pyroszóllósav 339
 l- α -pyrrolidincarbonsav 180
 β -raffináz 112
 raffinázok 111
 raffináz alkalmazása 113
 raffinomelibióz 111
 raffinóz 96
 α -raffináz 111
S
 Saccharáz 98
 Saccharomyces acidi lactis 107
 Saccharomyces anomalus 133

- Saccharomyces apiculatus 13
 Saccharomyces exiguns 133
 Saccharomyces fragilis 107
 Saccharomyces kefir 107
 Saccharomyces marxianus 133
 Saccharomyces intermedius 51
 Saccharomyces Ludwigii 83, 133
 Saccharomyces produktivus 13
 Saccharomyces saturnus 13
 Saccharomyces tyracola 1073
 salicylaldehyd 303
 salicyláz 303
 salicylsav 303
 salicin 148, 152
 saligenin 303
 saloláz 61
 sambunigrin 148
 sarkolemma 220
 saurin 175
 savanyú-d-argininezüstnitrát 173
 savanyú-d-argininnitrát 172
 savszám 55
 scatol 188
 scatolvörös 189
 Schütz-féle szabály 248
 Schütz-Borisono-féle törvény 58
 sekretin 251
 Seliwanoff-féle reakció 85
 selyemenyv 219
 selyemfibroin 219
 selyempepton előállítása 254
 semniáz 141
 sericoin 219
 l-serin 167, 192
 l-serinanhidrid 168
 sinigrin 155
 spongin 220
 stachyáz 113
 stachydrin 189
 steapsin 54
 strontium-disaccharat 87
 sinapinszulfát 155
 sulphaemoglobin 231
 syringin 148
 szabályos oltóenzim készítése 279
 szalonnakataláz 328
 szarúanyag 218
 szénhidrátokat bontó enzimek 62
 szérumalbumin 212
 szérumglobulin 214
 szinaptáz 142
 d-szorbit 85
 szőlőcukor 76
 szükráz 98
 Taxicatin 168
 tejalbumin 212
 tejcukor 94
 tejcukor α -módosulat 94
 tejcukor β -módosulat 94
 tejcukor γ -módosulat 94
 tej megalvadása 283
 tejsav 339
 tetraglycyl-glycin 261
 tetramethylendiamin 189
 2-thiol-4-(5)-aminomethylglyoxalin 184
 thrombáz 284
 thrombázoldatok előállítása 286
 thrombáz sajátosságai 289
 thrombin 285
 thymin 222
 tojasalbumin 212, 213
 trehaláz 110
 trehaloglükáz 110
 trehalóz 80
 triglycyl-glycinéter 261
 trigonellin 189
 trimethylglykokoll 189
 triózfoszfát 339
 l-trioxyglutársav 73
 α -tripszinfibrinpepton 237
 tripszin 14
 tripszin 250
 tripszin-előállítás 251
 tripszin előfordulása 251
 tripszin-felismerés optikai úton 257
 tripszin-képződés 251
 tripszin-kimutatás 253
 tripszin-meghatározás 253
 tripszin sajátosságai 260
 tripszintartalmú oldat előállítása 253
 tripszinogén 14
 triszaccharidok 96
 tryptophan 188
 l-tryptophan 182
 tryptophan elkülönítése 200
 l-tryptophanpikrat 184
 l-tryptophanpikrolonat 184
 l-tyrosin 179
 tyrosin 191
 tyrosin elkülönítése 200
 tyrosinpróba 254
 tyrosináz 321
 tyrosináz előállítása 322
 tyrosináz előfordulása 322
 tyrosináz kimutatása 323
 tyrosináz tulajdonságai 324
Uracil 224
 ureáz 272
 urikáz 307
 urikáz kimutatása 308
 urikáz meghatározása 308
 urikáz tulajdonságai 309
 urozozein 189
 d-valin 162
 d-valinphenylisocyanat 163
 d-valinphenylisocyanatanhydrid 163
 d-valinrézsó 163
 verbenalin 148
 vérkataláz 328
 vitellin 222
Xanthin 224, 271
 xanthinoxidáz 305
 xanthoproteinreakció 158
 xülonsavas cadmiumbromid 75
 l-xülóz 74
 xülóz phenylosazon 76

- xybán 141
xylanaz 141
Zein 215
zimogen 30
zselatin 217
zselatinpróba 241
zsírtbontó enzimek alkalmazása a gyakorlatban 58
zümáz előállítása 331
zümáz jelenlétének kimutatása 335
zümázok 331
zümázok előfordulása 331
zümáztartalmú folyadék készítése kioldás útján 334
zümáz tulajdonságai 336
zymoplasztikus anyagok 285
-

